



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

RASTREIO DE FORMAS PARASITÁRIAS EM FEZES DE CÃES RECOLHIDAS EM ESPAÇOS PÚBLICOS NA CIDADE DE BEJA

MARIA RITA FELÍCIO NUNES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor Virgílio da Silva Almeida
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho
Dr. André Mestre Reis Cláudio

ORIENTADOR:

Dr. André Mestre Reis Cláudio

CO-ORIENTADOR:

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

RASTREIO DE FORMAS PARASITÁRIAS EM FEZES DE CÃES RECOLHIDAS EM
ESPAÇOS PÚBLICOS NA CIDADE DE BEJA

MARIA RITA FELÍCIO NUNES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor Virgílio da Silva Almeida
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho
Dr. André Mestre Reis Cláudio

ORIENTADOR:

Dr. André Mestre Reis Cláudio

CO-ORIENTADOR:

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

2014

LISBOA

Agradecimentos

A realização deste trabalho não seria possível sem a colaboração de muitas pessoas, que de uma forma ou de outra, estiveram sempre disponíveis para me ajudar. A todas elas, os meus mais sinceros agradecimentos!

À Professora Doutora Isabel Fonseca, por ter aceitado ser minha co-orientadora neste trabalho, por todo o apoio técnico e conhecimentos transmitidos e pela disponibilidade total.

À Professora Doutora Cristina Vilela, que não me pode acompanhar até ao final deste percurso, por ter aceitado ser minha co-orientadora, por me ter apoiado e incentivado, e pela enorme disponibilidade na fase inicial deste trabalho.

Ao Dr. André Cláudio e à Dra. Isa Calado, por me terem permitido estagiar no Hospital Veterinário do Baixo Alentejo, que tanto contribuiu para a minha formação enquanto estudante de Medicina Veterinária e enquanto pessoa. Ainda em particular ao Dr. André Cláudio por se ter disponibilizado para me orientar no meu estágio e presente dissertação.

A todo o restante pessoal do HVBA, Sofia, Cláudia, Karla, Ana Luísa, Vânia Santos e Vânia Bravo, por me terem auxiliado tanto durante o meu estágio, confiado nas minhas capacidades e estimulado as minhas responsabilidades, sempre com amizade e companheirismo. À Ana Cunha, por todos os almoços à pressa, desabafos, partilhas de casos clínicos e noites.

À Dra. Lídia Gomes e restantes colegas de laboratório, pelo esclarecimento de (inúmeras) dúvidas e pela boa disposição sempre presente.

Àqueles que sempre estiveram comigo, nestes 6 anos de curso e de vida, em particular, Marta, Tiago, Sofia, Miguel e Catarina, por cada pequeno momento que partilhámos juntos, por terem ajudado a tornar-me a pessoa que sou hoje, e por estarem sempre presentes, nos bons e maus momentos. Obrigada por existirem!

A toda a minha família, principalmente aos meus pais, por me deixarem seguir os meus sonhos e estarem sempre lá para mim, com uma palavra de incentivo e um sorriso no rosto. Ao meu irmão, por todos os conselhos sábios e por toda a amizade e paciência que sempre demonstrou. À Carolina, pela companhia em tantos dias de trabalho e ainda pela ajuda com a parte gráfica deste trabalho.

Ao meu namorado, Daniel, pela paciência, amor e compreensão, mesmo durante as alturas mais difíceis.

À Iris, pela brilhante tradução de textos em holandês.

Resumo

Rastreio de formas parasitárias em fezes de cães recolhidas em espaços públicos na cidade de Beja

A contaminação ambiental por formas parasitárias em espaços públicos de centros urbanos ocorre devido à defecação dos animais (principalmente cães) sem posterior remoção das fezes pelos proprietários, e implica sérios riscos para a saúde animal e pública, no caso de se tratarem de agentes zoonóticos. Neste sentido, foi realizado um estudo com o objetivo de caracterizar o parasitismo com esta origem na cidade de Beja, Portugal.

Foram recolhidas 118 amostras de fezes de cães em 13 locais de recolha (parques e jardins) distribuídos geograficamente pela cidade. Todas as amostras foram sujeitas aos mesmos métodos coprológicos: técnica de flutuação (Willis), técnica de Baermann, esfregaços fecais corados com Giemsa e com recurso à técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Dez amostras cujo resultado foi duvidoso para presença de *Giardia* e/ou *Cryptosporidium* spp. foram posteriormente testadas com *kits* de imunofluorescência direta.

Este estudo demonstrou uma prevalência de 8,5% (10/118) de quistos de *Giardia* e 0,8% (1/118) de ovos de *Uncinaria stenocephala* nas amostras analisadas. A amostra positiva a *U. stenocephala* tinha também presença de quistos de *Giardia*. Não foram detetadas quaisquer outras formas parasitárias.

A prevalência de helmintes neste trabalho foi inferior às registadas noutros estudos nacionais semelhantes. Por outro lado, denota-se uma prevalência relativamente mais elevada de *Giardia*.

Sublinha-se a necessidade de educação da população no sentido da higienização destes espaços, através da remoção das fezes dos seus animais.

Palavras-chave: parasitas gastrointestinais; zoonoses; saúde pública; helmintes; protozoários; coprologia; Beja (Portugal).

Abstract

Parasite screening of canine faecal samples collected in Beja's public places

Environmental contamination with parasitic agents in public places of urban centres due to animals' faeces (mostly dogs) is undesirable. It represents a serious risk for animal and public health provided that zoonotic agents are implied. With that in mind, a study was performed aiming at the characterisation of the parasitism with that source in the city of Beja, Portugal. A total of 118 dog faecal samples were collected from 13 different spots, mainly public gardens and parks, geographically scattered over the city. All the samples were analysed by the same methods: flotation technique (Willis), Baermann technique, faecal smear stained with Giemsa and faecal smear stained according to the Ziehl-Neelsen modified technique. Ten dubious samples concerning *Giardia* and/or *Cryptosporidium* spp. were also tested with immunofluorescence kits.

The present study has revealed 8,5% (10/118) prevalence of *Giardia* cysts and 0,8% (1/118) prevalence of *Uncinaria stenocephala* eggs in the analysed samples. The only sample with *U. stenocephala* eggs, also presented *Giardia* cysts. No other parasite stages were detected. Helminths prevalence obtained in this study is lower than those reported in similar national studies. On the other hand, there is a relatively higher prevalence of *Giardia* in this study. One may also highlight the need for education of the population on the hygiene and maintenance of these public areas through removal and disposal of faecal matter.

Keywords: gastrointestinal parasites; zoonosis; public health; helminths; protozoan; coprology; Beja (Portugal).

Índice

| | |
|--|-----|
| Agradecimentos..... | i |
| Resumo | iii |
| Abstract | v |
| Índice..... | vii |
| Lista de Figuras | x |
| Lista de Tabelas | xi |
| Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos | xii |
| I. Introdução..... | 1 |
| 1. Descrição das Atividades Desenvolvidas | 2 |
| 1.1. Atividades Desenvolvidas no HVBA..... | 2 |
| 1.1.1. Medicina Interna | 2 |
| 1.1.2. Cirurgia | 4 |
| 1.1.3. Imagiologia..... | 4 |
| 1.2. Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa..... | 5 |
| II. Revisão Bibliográfica | 6 |
| 1. Céstodes..... | 7 |
| 1.1. <i>Echinococcus</i> spp. | 7 |
| 1.1.1. Etiologia | 7 |
| 1.1.2. Diagnóstico | 8 |
| 1.1.3. Risco zoonótico..... | 8 |
| 1.1.4. Terapêutica e controlo | 9 |
| 1.2. <i>Dipylidium caninum</i> | 10 |
| 1.2.1. Etiologia | 10 |
| 1.2.2. Diagnóstico | 10 |
| 1.2.3. Risco zoonótico..... | 11 |
| 1.2.4. Terapêutica e Controlo..... | 11 |
| 2. Nemátodes..... | 11 |
| 2.1. <i>Toxocara canis</i> | 11 |
| 2.1.1. Etiologia | 11 |
| 2.1.2. Diagnóstico | 13 |
| 2.1.3. Risco zoonótico..... | 14 |
| 2.1.4. Terapêutica e controlo | 15 |
| 2.2. <i>Toxascaris leonina</i> | 16 |
| 2.2.1. Etiologia | 16 |
| 2.2.2. Diagnóstico | 16 |
| 2.2.3. Terapêutica e Controlo..... | 16 |
| 2.3. <i>Ancylostoma</i> spp. e <i>Uncinaria</i> sp. | 17 |
| 2.3.1. Etiologia | 17 |
| 2.3.2. Diagnóstico | 17 |

| | | |
|--------|---|----|
| 2.3.3. | Risco zoonótico..... | 18 |
| 2.3.4. | Terapêutica e controlo..... | 18 |
| 2.4. | <i>Trichuris vulpis</i> | 19 |
| 2.4.1. | Etiologia | 19 |
| 2.4.2. | Diagnóstico | 19 |
| 2.4.3. | Risco zoonótico..... | 19 |
| 2.4.4. | Terapêutica e controlo..... | 20 |
| 2.5. | <i>Strongyloides stercoralis</i> | 20 |
| 2.5.1. | Etiologia | 20 |
| 2.5.2. | Diagnóstico | 20 |
| 2.5.3. | Risco zoonótico..... | 20 |
| 2.5.4. | Terapêutica e controlo..... | 21 |
| 2.6. | <i>Angiostrongylus vasorum</i> | 21 |
| 2.6.1. | Etiologia | 21 |
| 2.6.2. | Diagnóstico | 22 |
| 2.6.3. | Risco zoonótico..... | 22 |
| 2.6.4. | Terapêutica e controlo..... | 23 |
| 3. | Protozoários | 23 |
| 3.1. | <i>Giardia</i> spp..... | 23 |
| 3.1.1. | Etiologia | 23 |
| 3.1.2. | Diagnóstico | 25 |
| 3.1.3. | Risco zoonótico..... | 26 |
| 3.1.4. | Terapêutica e controlo..... | 27 |
| 3.2. | <i>Cryptosporidium</i> spp. | 27 |
| 3.2.1. | Etiologia | 27 |
| 3.2.2. | Diagnóstico | 28 |
| 3.2.3. | Risco zoonótico..... | 28 |
| 3.2.4. | Terapêutica e Controlo..... | 28 |
| 3.3. | <i>Cystoisospora</i> sp..... | 29 |
| 3.3.1. | Etiologia | 29 |
| 3.3.2. | Diagnóstico | 29 |
| 3.3.3. | Terapêutica e Controlo..... | 29 |
| 4. | Considerações sobre Saúde Pública e o papel do Médico Veterinário | 30 |
| III. | Rastreio de formas parasitárias em fezes de cães recolhidas em espaços públicos na cidade de Beja | 32 |
| 1. | Objetivos | 32 |
| 2. | Material e Métodos..... | 32 |
| 2.1. | Caracterização da população canina..... | 32 |
| 2.2. | Locais de recolha | 32 |
| 2.3. | Período de recolha | 33 |
| 2.4. | Amostras..... | 33 |

| | | |
|--------|---|----|
| 2.5. | Técnicas laboratoriais utilizadas na análise das amostras | 34 |
| 2.5.1. | Exame macroscópico..... | 34 |
| 2.5.2. | Técnica de flutuação de Willis..... | 34 |
| 2.5.3. | Técnica de Baermann | 35 |
| 2.5.4. | Esfregaço fecal | 36 |
| 2.5.5. | Imunofluorescência Direta (<i>kit</i> Crypto/Giardia Cell IF)..... | 37 |
| 2.6. | Análise estatística | 38 |
| 3. | Resultados | 39 |
| 3.1. | Caracterização das amostras..... | 39 |
| 3.2. | Observação Macroscópica..... | 39 |
| 3.3. | Parasitas observados pela técnica de Willis..... | 39 |
| 3.4. | Parasitas observados pela técnica de Baermann..... | 40 |
| 3.5. | Parasitas observados em esfregaços fecais | 40 |
| 3.5.1. | Esfregaços fecais corados com Giemsa | 40 |
| 3.5.2. | Esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada..... | 40 |
| 3.6. | Técnica de Imunofluorescência Direta | 41 |
| 3.7. | Resumo dos resultados gerais | 41 |
| 4. | Discussão | 42 |
| IV. | Conclusão | 53 |
| V. | Perspetivas futuras | 54 |
| | Bibliografia..... | 55 |
| | Anexos | 62 |
| | Anexo 1 – Mapa da cidade de Beja com os pontos de recolha de amostras assinalados. | 63 |
| | Anexo 2 – Adaptação do protocolo da técnica de Imunofluorescência Direta com recurso ao <i>kit</i> Crypto/Giardia Cell IF (Cellabs®)..... | 64 |
| | Anexo 3 – Resultados obtidos nas análises das amostras em estudo..... | 65 |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Aspeto de consulta a açor juvenil (<i>Accipiter gentilis</i>) com suspeita de aspergilose (fotografia original). | 3 |
| Figura 2 - Observação de produto de raspagem cutânea ao microscópio ótico (<i>Sarcoptes</i> sp.) (fotografia original). | 3 |
| Figura 3 - Limpeza e desinfecção de feridas na área do internamento (fotografia original). | 3 |
| Figura 4 - Drenagem de piotórax a um gato em regime de urgência (fotografia original). | 3 |
| Figura 5 - Ovariohisterectomia em cadela com quistos ováricos (fotografia original). | 4 |
| Figura 6 - Retração cirúrgica da terceira pálpebra em cão (fotografia original). | 4 |
| Figura 7 - Cápsula ovígera de <i>Dipylidium caninum</i> (fotografia original). | 10 |
| Figura 8 - Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i> (original). | 13 |
| Figura 9 - Formas de <i>Toxocara canis</i> : A) ovo embrionado; B) forma adulta, com pormenor nas asas cervicais; C) forma adulta com pormenor na boca trilabiada (fotografias originais). | 14 |
| Figura 10 - Ovo de tipo ancilostomatídeo (fotografia original). | 18 |
| Figura 11 - Larva de 1º estágio de <i>Angiostrongylus vasorum</i> (fonte: Alho <i>et al.</i> , 2013). | 22 |
| Figura 12 - Formas de <i>Giardia</i> : A) Quistos de <i>Giardia</i> em esfregaço fecal; B) Trofozoíto de <i>Giardia</i> (fotografias originais). | 24 |
| Figura 13 - Ciclo biológico de <i>Giardia duodenalis</i> (original). | 25 |
| Figura 14 - Método de Willis: A) preparação do material necessário; B) diluição da amostra em solução saturada de sacarose; C) filtração da amostra com formação de um menisco convexo; D) observação ao microscópio ótico, em ampliação de 400x (fotografias originais). | 35 |
| Figura 15 - Técnica de Baermann: A) preparação do material necessário; B) criação de uma "boneca" com a amostra envolvida em gaze; C) repouso durante 24 horas; D) recolha do sedimento para observação no microscópio ótico (fotografias originais). | 36 |
| Figura 16 - Esfregaços fecais: A) secagem do esfregaço ao ar; B) aspeto de coloração de esfregaços com fucsina (fotografias originais). | 37 |
| Figura 17 – Conjunto de imunofluorescência Crypto/Giardia Cell IF: A) preparação do material necessário; B) amostras colocadas nos poços (fotografias originais). | 38 |
| Figura 18 - Ovo de tipo ancilostomatídeo em processo de medição (fotografia original). | 40 |
| Figura 19 – Presença de quistos de <i>Giardia</i> em esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada (fotografia original). | 40 |
| Figura 20 - Mapa da cidade de Beja, com locais de recolha identificados. | 63 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Potencial zoonótico dos principais parasitas gastrointestinais de cães (Adaptado de: Lebre, 2011). | 6 |
| Tabela 2 - Dimensões médias dos ovos de <i>A. caninum</i> e <i>U. stenocephala</i> (adaptado de Zajac & Conboy, 2012). | 18 |
| Tabela 3 - Distribuição do número de amostras pelos diferentes locais de recolha. | 39 |
| Tabela 4 - Síntese dos resultados gerais obtidos (n=118). | 41 |
| Tabela 5 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas. | 65 |

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

% – Por cento

& – E

µm – Micrómetro

µl – Microlitro

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

°C – Grau Celsius

BID – Duas vezes ao dia

cm – Centímetro

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ESCCAP – European Scientific Counsel Companion Animal Parasites

FMV – Faculdade de Medicina Veterinária

g – Grama

HVBA – Hospital Veterinário do Baixo Alentejo

IC95% – Intervalo de Confiança de 95 por cento

IF – Imunofluorescência (Direta)

IFAT – Immuno-Fluorescence Antibody Test

IgE – Imunoglobulina E

km² – quilómetro quadrado

L1 – Larva de primeiro estágio

L2 – Larva de segundo estágio

L3 – Larva de terceiro estágio

LMC – Larva Migrante Cutânea

LMO – Larva Migrante Ocular

LMV – Larva Migrante Visceral

m² – Metro quadrado

mg/kg – Miligrama por quilograma

mm – Milímetro

n – Número total de amostras

OMS – Organização Mundial de Saúde

PBS – Phosphate Buffered Saline

PCR – Polymerase Chain Reaction

® – Marca registada

SID – Uma vez ao dia

sp. – Espécie

spp. – Espécies

UL – Universidade de Lisboa

I. Introdução

Os cães, animais de companhia por excelência, partilham com os respetivos proprietários laços de companheirismo e amizade, que trazem benefícios múltiplos e inquestionáveis para estes, em termos físicos e psicológicos. Em oposição a estes efeitos benéficos, surgem os riscos de ter um cão como animal de estimação, como a possibilidade de mordeduras ou arranhões, alergias, e um grande número de infeções que podem ser transmitidas ao ser humano (Beck & Meyers, 1996; Robertson & Thompson, 2002; O'Haire, 2010). De facto, cerca de 60% das espécies patogénicas para o Homem têm origem em agentes zoonóticos (Taylor, Latha, & Woolhouse, 2001; Jones *et al.*, 2008), como por exemplo, *Echinococcus*, ascarídeos, ancilostomatídeos e protozoários como *Giardia duodenalis* ou *Cryptosporidium* spp.. Os cães podem ser portadores de alguns destes agentes, incluindo os parasitas intestinais, como protozoários e helmintes, e dada a sua proximidade ao ser humano, representam uma fonte de infeção que não pode ser desprezada. A tendência é que os animais de companhia cada vez mais vivam dentro de casa e durmam com os seus donos (Paul, King & Carlin, 2010). As infeções por eles transmitidas podem ser particularmente graves em grupos de risco, como as crianças, as grávidas, os idosos e os imunocomprometidos (Robertson, Irwin, Lymbery & Thompson, 2000).

Esta dissertação surge na sequência do estágio curricular da autora no Hospital Veterinário do Baixo Alentejo [HVBA], em Beja, e por haver pouca informação sobre o grau e o tipo de parasitismo dos animais domésticos nessa região, numa altura em que a desparasitação dos animais de companhia é efetuada pela maioria dos clínicos veterinários de forma rotineira e com recurso a fármacos de largo espectro, sem diagnóstico parasitológico prévio. A recolha de material fecal nos parques e jardins públicos da cidade, que são as zonas mais frequentadas por donos que passeiam os seus cães, pretende ao mesmo tempo enquadrar neste trabalho a relação próxima entre cães e humanos, e as consequências que daí podem advir quando os cuidados de higiene e de profilaxia não correspondem ao recomendado. A contaminação desses espaços públicos com fezes dos animais que possam conter agentes parasitários zoonóticos constitui, portanto, um risco para a saúde pública, em especial nos grupos de risco já referidos (Crespo, Rosa & Silva, 2006; Crespo, Fradinho & Rosa, 2013). No caso particular das crianças, além das razões imunológicas, acrescem como factores de risco o facto de brincarem no solo, terem comportamentos de geofagia e também uma menor consciencialização no que toca a hábitos de higiene (Robertson & Thompson, 2002).

1. Descrição das Atividades Desenvolvidas

O estágio curricular da autora compreendeu duas fases distintas: uma primeira, realizada no HVBA, seguida por outro período de estágio no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária [FMV] da Universidade de Lisboa [UL], onde foram processadas e analisadas as amostras que servem de base a esta dissertação de mestrado.

1.1. Atividades Desenvolvidas no HVBA

Durante o período compreendido entre 28 de agosto de 2013 e 28 de fevereiro de 2014, a autora realizou o seu estágio no HVBA, acompanhando a rotina diária de funcionamento do mesmo. O estágio, com duração de cerca de 1100 horas, incluiu participação nas áreas de medicina interna (consultas, internamento e urgências), cirurgia e imagiologia.

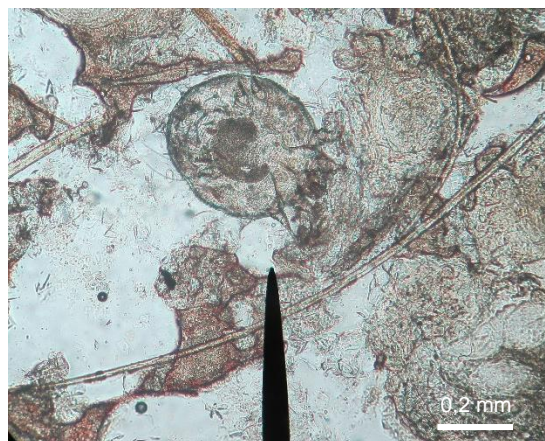
1.1.1. Medicina Interna

Na área da medicina interna, as consultas terão constituído cerca de 30% do total das horas de estágio no HVBA. Durante as consultas, a autora assistiu ao processo de anamnese e exame físico realizados pelos clínicos, participando no plano de diagnóstico e, quando necessário, na elaboração de um plano terapêutico. As causas de consulta mais comuns passaram pela profilaxia (planos vacinais e de desparasitação interna e externa), problemas dermatológicos (situações de alopecia e/ou prurido) e problemas gastrointestinais (episódios de anorexia, diarreia e/ou vômito); no entanto, outras causas como otites, claudicações, alterações do aparelho urinário e/ou reprodutivo também constituíram estímulos iatrogénicos. As principais espécies consultadas foram cães (*Canis familiaris*) e gatos (*Felis catus*), mas houve também duas consultas em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) e uma consulta a um açor (*Accipiter gentilis*) (Figura 1). De entre os exames complementares de diagnóstico mais usados, salientam-se o hemograma, as análises bioquímicas e a observação de sedimento urinário, citologias variadas, raspagens cutâneas, entre outras (Figura 2).

Figura 1 – Aspeto de consulta a açor juvenil (*Accipiter gentilis*) com suspeita de aspergilose (fotografia original).



Figura 2 - Observação de produto de raspagem cutânea ao microscópio ótico (*Sarcoptes* sp.) (fotografia original).



O internamento foi a área a que a autora dedicou mais tempo do seu estágio, num total de cerca de 400 horas. Nesta secção, eram prestados os cuidados necessários aos animais internados, nomeadamente: monitorizações de estado físico, administração de terapêuticas, investigação de casos clínicos, suporte nutricional e hidroeletrolítico, preparação de pacientes para cirurgia, monitorização da recuperação pós-cirúrgica, transfusões sanguíneas, reabilitação motora, entre outros cuidados mais específicos para cada caso (Figura 3).

As urgências representaram uma pequena parte das horas do estágio (cerca de 50 horas) em que foram assistidos animais em diferentes estados de emergência médica. Alguns dos casos consistiram em atropelamentos, torções gástricas, piómetras, paragens cardiorrespiratórias, reações de hipersensibilidade e dificuldades respiratórias com diversas origens (Figura 4).

Figura 3 - Limpeza e desinfecção de feridas na área do internamento (fotografia original).



Figura 4 - Drenagem de piotórax a um gato em regime de urgência (fotografia original).



1.1.2. Cirurgia

A área da cirurgia representou cerca de 20% do total de horas do estágio curricular no HVBA. Nesta área, a autora teve responsabilidades na preparação do paciente cirúrgico, nomeadamente na realização de análises hematológicas e bioquímicas pré-cirúrgicas, indução e manutenção da anestesia, tricotomia e assepsia do paciente, monitorização do paciente durante a anestesia e auxílio direto do cirurgião. Os principais casos observados foram as cirurgias eletivas do trato reprodutivo, ou seja, ovariohisterectomias (Figura 5) e orquiectomias, em cães e gatos, seguidas das cirurgias ortopédicas, nomeadamente, resolução de fraturas e luxações. Foram ainda observadas cirurgias oculares (Figura 6), do trato urinário, mastectomias, destartarizações, entre outras.

Figura 5 - Ovariohisterectomia em cadela com quistos ováricos (fotografia original).

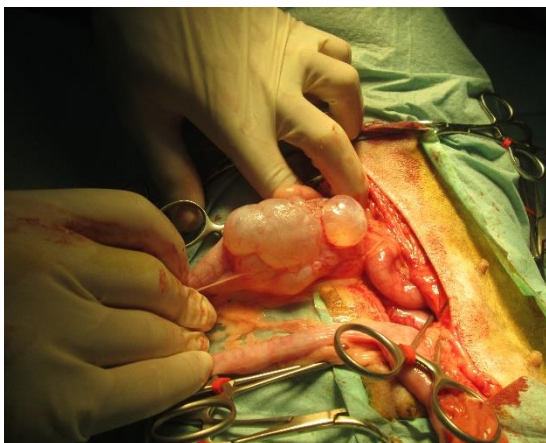


Figura 6 - Retração cirúrgica da terceira pálpebra em cão (fotografia original).



1.1.3. Imagiologia

Esta secção representou cerca de 150 horas do estágio no HVBA e prendeu-se sobretudo na realização e interpretação de radiografias e ultrassonografias aos animais consultados e internados. O uso da radiografia foi primordial em casos de claudicações ou problemas respiratórios, ao passo que a ultrassonografia se mostrou preferencial em casos com sede renal ou das vias urinárias, sinais gastrointestinais ou reprodutivos.

1.2. Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa

No Laboratório, a autora desenvolveu a parte prática deste trabalho. Deste modo, inclui-se nesta fase do estágio a recolha e processamento das amostras, bem como a sua posterior análise a fim de chegar a um diagnóstico. Esta fase do estágio compreendeu cerca de 170 horas, das quais 20 terão sido despendidas com a colheita de amostras, 90 com a realização das coprologias, que incluíram os métodos de flutuação pela técnica de Willis e concentração de larvas pulmonares pela técnica de Baermann. Aproximadamente 60 horas foram empregues na observação dos esfregaços fecais ao microscópio ótico e de lâminas em microscópio de imunofluorescência.

II. Revisão Bibliográfica

Os parasitas gastrointestinais dos cães representam um importante motivo de consulta dos centros de atendimento médico-veterinários e podem causar uma grande variedade de sinais bastante inespecíficos, como anorexia, anemia, ou diarreia, com diferentes taxas de morbidade e mortalidade, que podem atingir valores especialmente consideráveis em animais jovens, idosos ou imunocomprometidos (Neves, Lobo, Simões & Cardoso, 2014). Entre os parasitas gastrointestinais que acometem os cães, merecem especial destaque para este trabalho aqueles que em alguma fase do seu desenvolvimento afetam também o ser humano, e portanto, estes serão abordados de forma mais detalhada. Na Tabela 1 estão representados os principais parasitas gastrointestinais dos cães, bem como o seu potencial zoonótico.

Tabela 1 - Potencial zoonótico dos principais parasitas gastrointestinais de cães (Adaptado de: Lebre, 2011).

| | Parasita | Potencial zoonótico |
|--------------|-----------------------------|--|
| Nemátodes | <i>Toxocara</i> spp. | Larva migrante visceral Larva migrante ocular |
| | <i>Toxascaris</i> sp. | |
| | <i>Ancylostoma</i> sp. | Larva migrante cutânea Enterite eosinofílica |
| | <i>Uncinaria</i> sp. | Larva migrante cutânea |
| | <i>Trichuris</i> sp. | Tricuriose (raro) |
| | <i>Strongyloides</i> spp. | Estrongiloidose |
| Céstodes | <i>Echinococcus</i> spp. | Hidatidose |
| | <i>Taenia</i> spp. | Cenurose (raro) |
| | <i>Dipylidium</i> sp. | Dipilidiose |
| | <i>Giardia</i> sp. | Giardiose |
| Protozoários | <i>Cryptosporidium</i> spp. | Criptosporidiose |
| | <i>Cystoisospora</i> sp. | |

Serão referidas nesta revisão bibliográfica apenas alguns dos géneros dos parasitas gastrointestinais que infetam os cães, nomeadamente aqueles que surgiram durante a realização do estudo e aqueles que, devido à sua importância para a Saúde Animal e Saúde Pública merecem ser destacados. Embora não seja parasita gastrointestinal, mas sim pulmonar, será também referida nesta revisão a infeção por *Angiostrongylus vasorum*, visto que as formas larvares L1 são eliminadas pelas fezes e detetadas por métodos coprológicos, nomeadamente, a técnica de Baermann (Alho, Nabais & Madeira de Carvalho, 2013), que foi empregue neste estudo.

1. Céstodes

A classe Cestoda é constituída por helmintes de corpos achatados, com os dois sexos representados no mesmo indivíduo. As formas adultas são compostas por um número variável de segmentos ou proglotes independentes (que contem os órgãos reprodutivos na fase madura) e constituem o estróbilo. Na extremidade anterior têm um órgão de fixação, com ventosas e ganchos, o escólex. A unir o escólex e o estróbilo encontra-se o pescoço. A ordem Cyclophyllidea engloba as espécies que parasitam os cães, pertencentes às famílias Taeniidae e Dipylidiidae (Bowman, 2009).

A família Taeniidae, que compreende os géneros *Taenia* e *Echinococcus*, é constituída exclusivamente por parasitas obrigatórios e afeta apenas mamíferos. As formas larvares encontram-se nos hospedeiros intermediários e podem ser de diferentes tipos: cisticercos, estrabilocercos, cenuros e hidátides (sendo estas últimas características do género *Echinococcus*). Os cães podem ser parasitados por espécies dos dois géneros, sendo possíveis hospedeiros definitivos de *Taenia pisiformis*, *T. hydatigena*, *T. ovis*, *T. multiceps*, *T. serialis*, *Echinococcus granulosus* e *E. multilocularis* (mais raramente). Todas elas são pouco patogénicas para o seu hospedeiro definitivo (Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007). Por serem de carácter zoonótico, serão desenvolvidas com mais detalhe *Echinococcus* spp. e *Dipylidium caninum*. O ser humano pode ainda ser acidentalmente afetado pela forma larvar de *T. multiceps*, *Coenurus cerebralis*, ao ingerir vegetais contaminados por fezes do hospedeiro definitivo do parasita. Os cenuros formam-se no sistema nervoso central, olhos e outros tecidos, e os sintomas variam de acordo com a localização e tamanho da larva. O diagnóstico pode ser realizado, nos humanos, por tomografia computadorizada ou por ressonância magnética; nos cães, o diagnóstico é efetuado por métodos coprológicos (Dhaliwal & Juyal, 2013).

1.1. *Echinococcus* spp.

1.1.1. Etiologia

Os parasitas adultos surgem no intestino delgado dos hospedeiros definitivos (mais comumente cães, no caso de *Echinococcus granulosus*, e raposas, no caso de *Echinococcus multilocularis*) (Robertson & Thompson, 2002) e medem entre 2 a 7 mm, dividindo-se em escólex, pescoço e estróbilo com três proglotes na maioria dos casos (Moraes, 1998). *E. granulosus* apresenta uma distribuição mundial, ao passo que *E. multilocularis* surge maioritariamente no hemisfério norte, com áreas endémicas na Europa, Ásia e América do Norte (Ballweber, 2001; Deplazes, Knapen, Schweiger & Overgrauw, 2011; Dhaliwal & Juyal, 2013).

Os hospedeiros intermediários de *E. granulosus*, incluindo os principais herbívoros domésticos e o ser humano, são infetados após ingestão de ovos dos parasitas, maioritariamente através de alimentos contaminados por fezes dos hospedeiros definitivos. Os ovos dão lugar à forma larvar, denominada por *Echinococcus polymorphus*, que se aloja nas vísceras do hospedeiro intermediário, nomeadamente nos pulmões e no fígado (Bowman, 2009). Os hospedeiros definitivos, por sua vez, infetam-se ao ingerirem estas vísceras parasitadas (Dhaliwal & Juyal, 2013). No caso de *E. multilocularis*, o ciclo biológico é semelhante, alterando-se os hospedeiros definitivos (raposas e outros cánídeos selvagens, e mais raramente cães) e intermediários (roedores silvestres) (Deplazes *et al.*, 2011; Dhaliwal & Juyal, 2013). As formas larvares presentes nos hospedeiros intermediários são os quistos hidáticos, uniloculares no caso de *E. granulosus* e multiloculares no caso de *E. multilocularis*. Cada quisto hidático ingerido pelo hospedeiro definitivo pode originar mais do que um parasita adulto (Ballweber, 2001).

1.1.2. Diagnóstico

Os hospedeiros definitivos de ambas as espécies não apresentam quaisquer sinais clínicos na grande maioria dos casos; além disso, os proglotes expelidos nas fezes, de dimensões extremamente reduzidas, são muito difíceis de identificar macroscopicamente (Deplazes *et al.*, 2011), o que torna o diagnóstico possível apenas pela deteção de ovos por flutuação fecal e posterior identificação a microscópio ótico. Os ovos são idênticos aos de *Taenia* spp., ligeiramente ovais, com até 40 µm de diâmetro e a parede apresenta estriações radiais (Ballweber, 2001). Pode ainda recorrer-se a técnicas sorológicas por coproantigénios ou PCR para identificação e confirmação do diagnóstico (Zajac & Conboy, 2012; Dhaliwal & Juyal, 2013).

1.1.3. Risco zoonótico

A grande importância do género *Echinococcus* prende-se com o seu potencial zoonótico. Os ovos libertados nas fezes dos hospedeiros definitivos são imediatamente infetantes, pelo que ovos agarrados ao pelo dos animais podem constituir um risco para os seus proprietários e restantes pessoas que com eles possam contactar (Robertson & Thompson, 2002). O ser humano infetado pode desenvolver equinococose quística (no caso de infeção por *E. granulosus*) ou equinococose alveolar (se a espécie presente for *E. multilocularis*). Segundo Deplazes *et al.* (2011), as fontes de infeção são múltiplas, sendo as mais importantes: o contacto próximo com os hospedeiros definitivos e a ingestão de alimentos ou água contaminados; no entanto, como descrito pelos mesmos autores, há também forte evidência de que as larvas de ambas as espécies possam desenvolver-se depois de contaminar pequenas lesões cutâneas. A transmissão doméstica de ovos de *E. granulosus* é uma situação particularmente grave em áreas com padrões educacionais inadequados e pouco

controle veterinário (Deplazes *et al.*, 2011). Os sintomas variam consoante a localização das hidátides, sendo que as mais comuns se encontram no fígado e nos pulmões, e portanto os sintomas desenvolvidos são concordantes com os órgãos afetados (Robertson & Thompson, 2002; Dhaliwal & Juyal, 2013). Outros hospedeiros intermediários permanecem geralmente assintomáticos, sendo o diagnóstico realizado maioritariamente *post-mortem* e representando muitas vezes um elevado prejuízo económico, no que toca às espécies usadas para consumo humano (Dhaliwal & Juyal, 2013).

No caso de *E. multilocularis*, que começou por apresentar ciclos maioritariamente silvestres, surge atualmente também em ambiente urbano, com o crescimento das populações de raposas e coiotes nos Estados Unidos da América e na Europa Central, de Norte e de Leste. A presença de *E. multilocularis* nos cães domésticos é rara, mas está descrita, e a sua transmissão a humanos traz problemas acrescidos comparativamente à hidatidose quística, visto que neste caso as hidátides proliferam e metastizam, invadindo órgãos vitais e colocando o doente em perigo de vida (Deplazes & Eckert, 2001; Deplazes *et al.*, 2011)

1.1.4. Terapêutica e controlo

A erradicação da parasitose passa por programas de controlo ponderados e conhecimento preciso do ciclo biológico do parasita, e só se atinge através de medidas legislativas, como o controlo de animais errantes e a prevenção de abates ilegais de animais para consumo humano, que muitas vezes são a fonte de contaminação para os cães (Kachani & Heath, 2014; Robertson & Thompson, 2002). O tratamento dos cães infetados, e a desparasitação profilática de cinco em cinco semanas também é fulcral, nomeadamente no caso de *E. granulosus* (Robertson & Thompson, 2002; Deplazes *et al.*, 2011; Dhaliwal & Juyal, 2013; Kachani & Heath, 2014). Nos cães, o praziquantel e o epsiprantel são os fármacos de eleição para tratamento e profilaxia de equinococose. São fármacos extremamente seguros, estando disponibilizado em diversas formas comerciais, e podendo ser utilizado conforme indicações do fabricante (European Scientific Counsel Companion Animals Parasites [ESCCAP], 2010; Kachani & Heath, 2014). A educação da população é sempre o primeiro passo a tomar, pois só daí todas as outras medidas podem atingir o sucesso esperado. No caso da equinococose alveolar, o risco de infeção poderá ser menor com medidas de controlo dos canídeos silvestres, que nem sempre são fáceis de alcançar devido ao elevado sucesso reprodutivo destas espécies, e muitas vezes ao desconhecimento dos seus locais de abrigo (Deplazes *et al.*, 2011).

1.2. *Dipylidium caninum*

1.2.1. Etiologia

Esta espécie com distribuição cosmopolita afeta cães, gatos e alguns carnívoros silvestres e tem também carácter zoonótico descrito (Ballweber, 2001; Bowman, 2009; Dhaliwal & Juyal, 2013). Os proglotes grávidos são expelidos nas fezes do animal parasitado, acabando por se romper e libertar os ovos contidos no seu interior. Estes ovos são posteriormente ingeridos pelos hospedeiros intermediários dos parasitas, larvas de pulgas (*Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis*, *Pulex irritans*) e piolhos (*Trichodectes canis*), onde se desenvolvem as formas larvares cisticercóides. O ciclo biológico dos parasitas completa-se, quando os cães, porque tentam aliviar o prurido, ao morder-se, acabam por ingerir as pulgas ou piolhos infetados com os cisticercóides. Dentro de 2 a 3 semanas, as larvas darão lugar ao parasita adulto, no intestino delgado dos canídeos (Robertson & Thompson, 2002; Bowman, 2009; Dhaliwal & Juyal, 2013).

1.2.2. Diagnóstico

Geralmente, o único sinal clínico é o prurido anal nos hospedeiros definitivos mas a infeção pode também ser assintomática (Ballweber, 2001; Robertson & Thompson, 2002; Zajac & Conboy, 2012; Dhaliwal & Juyal, 2013). O diagnóstico é baseado, portanto, na presença de proglotes nas fezes ou agarrados ao pelo na região perianal (Zajac & Conboy, 2012), que correspondem a estruturas semelhantes a bagos de arroz. Na observação dos proglotes, ou como resultado de uma flutuação fecal surgem, na visualização ao microscópio ótico, ovos agrupados em cápsulas ovígeras, o que permite a diferenciação com *Taenia* spp. (Ballweber, 2001; ESCCAP, 2010; Zajac & Conboy, 2012). Na Figura 7 encontra-se representada uma cápsula ovígera de *D. caninum*, com os ovos no seu interior.

Figura 7 - Cápsula ovígera de *Dipylidium caninum* (fotografia original).



1.2.3. Risco zoonótico

Em relação ao potencial zoonótico deste céstode, o ser humano é considerado um hospedeiro acidental, com raros casos relatados, a maioria tratando-se de crianças e bebês que ingerem os hospedeiros intermediários do parasita (Robertson & Thompson, 2002; Molina, Ogburn & Adegboyega, 2003; Bowman, 2009; Dhaliwal & Juyal, 2013). Muitas vezes esta infecção é autolimitante e assintomática, ou tem apenas sinais clínicos inespecíficos como dor abdominal, diarreia ou prurido na região perianal (Robertson & Thompson, 2002; Dhaliwal & Juyal, 2013). O diagnóstico é estabelecido com base na descrição dos proglotes nas fezes e posterior identificação em laboratório (Molina *et al.*, 2003).

1.2.4. Terapêutica e Controlo

O tratamento da parasitose nos animais de companhia pode ser feito com praziquantel e epsiprantel, de acordo com as recomendações dos fabricantes. Também a associação de pirantel com febantel e praziquantel está descrita para terapêutica desta parasitose, com a vantagem de eliminar igualmente nemátodes (Nelson & Couto, 2009). A prevenção da doença nos humanos, para além da correta desparasitação interna e controlo de vetores dos seus animais de companhia, passa por hábitos de higiene pessoal e eliminação adequada dos dejetos dos animais (Dhaliwal & Juyal, 2013).

2. Nemátodes

O filo Nematoda compreende cerca de 120 géneros com importância médico-veterinária, sendo o grupo mais relevante dos helmintes. Os nemátodes são helmintes filiformes, de corpo não segmentado e secção redonda, forma que é mantida devido à elevada pressão interna do líquido no seu interior, e pela cutícula de fibras de colagénio. Os sexos são separados e existe dimorfismo sexual: dentro de cada espécie, as fêmeas são maiores do que os machos e estes últimos apresentam geralmente um órgão copulador na extremidade posterior (Bowman, 2009). A cutícula pode apresentar diversas modificações, como coroas denticulares, vesículas cefálicas e cervicais, asas cervicais e papilas cervicais, (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn & Jennings, 1996). Podem ser parasitas obrigatórios ou ser de vida livre, e exibem diversas fases larvares durante o seu ciclo de vida (Bowman, 2009).

2.1. *Toxocara canis*

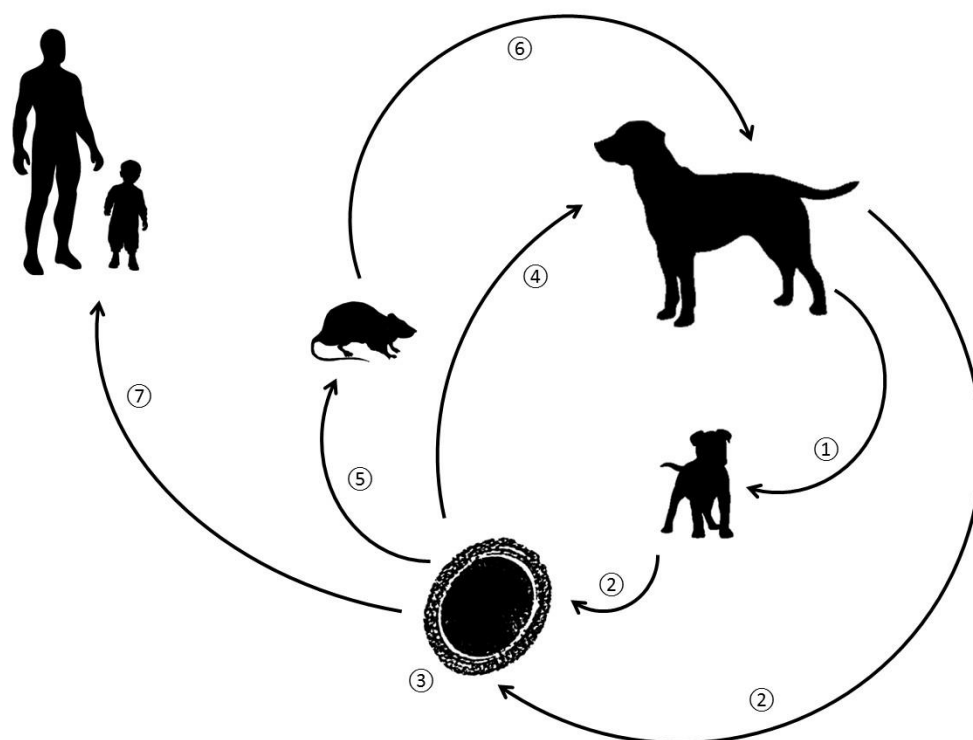
2.1.1. Etiologia

Com distribuição geográfica mundial, *Toxocara canis* é um dos mais importantes agentes patogénicos em cachorros, podendo ser responsável por nados-mortos, mortalidade neonatal e atrasos de crescimento (Zajac & Conboy, 2012). Os cães adultos parasitados não apresentam geralmente quaisquer sinais clínicos. Nos cachorros os sinais mais comuns são

vômitos, diarreia ou, mais raramente, obstrução intestinal, dilatação abdominal e atrasos de crescimento (Ballweber, 2001; Dhaliwal & Juyal, 2013). Também a ocorrência de pneumonia associada à migração de larvas de *T. canis* nos pulmões está descrita em cachorros (Ballweber, 2001).

Este parasita apresenta um ciclo biológico direto, podendo ser indireto na presença de hospedeiros paraténicos (Ballweber, 2001). Os ovos são expelidos nas fezes dos animais parasitados, ainda não embrionados, sofrendo depois maturação no meio ambiente, no espaço de 3 a 6 semanas até à forma infetante: ovo com L2 no seu interior (Ballweber, 2001; Deplazes *et al.*, 2011). Os cachorros adquirem a infeção por via transplacentária (a mais significativa) e transmamária. Quando adquirem a infeção por via transplacentária podem expelir ovos em 3 semanas; pela via transmamária demoram mais tempo, cerca de 4 a 5 semanas (Amaral, *et al.*, 2010). Os animais adultos também podem adquirir a infeção por ingestão de ovos embrionados ou de larvas em solo contaminado, ou ainda de hospedeiros paraténicos (roedores) (Deplazes *et al.*, 2011; Zajac & Conboy, 2012). O desenvolvimento endógeno do parasita é complexo, e depende da idade do hospedeiro, sendo que em cachorros há uma migração entero-hepato-pneumo-traqueo-entérica e nos adultos há migração somática com posterior enquistamento das larvas nos tecidos. No caso concreto das fêmeas, as larvas enquistadas podem ser reativadas posteriormente devido a picos hormonais, na gestação, ou durante o estro. O ciclo biológico de *T. canis* encontra-se esquematizado na Figura 8.

Figura 8 - Ciclo biológico de *Toxocara canis* (original).



Legenda:

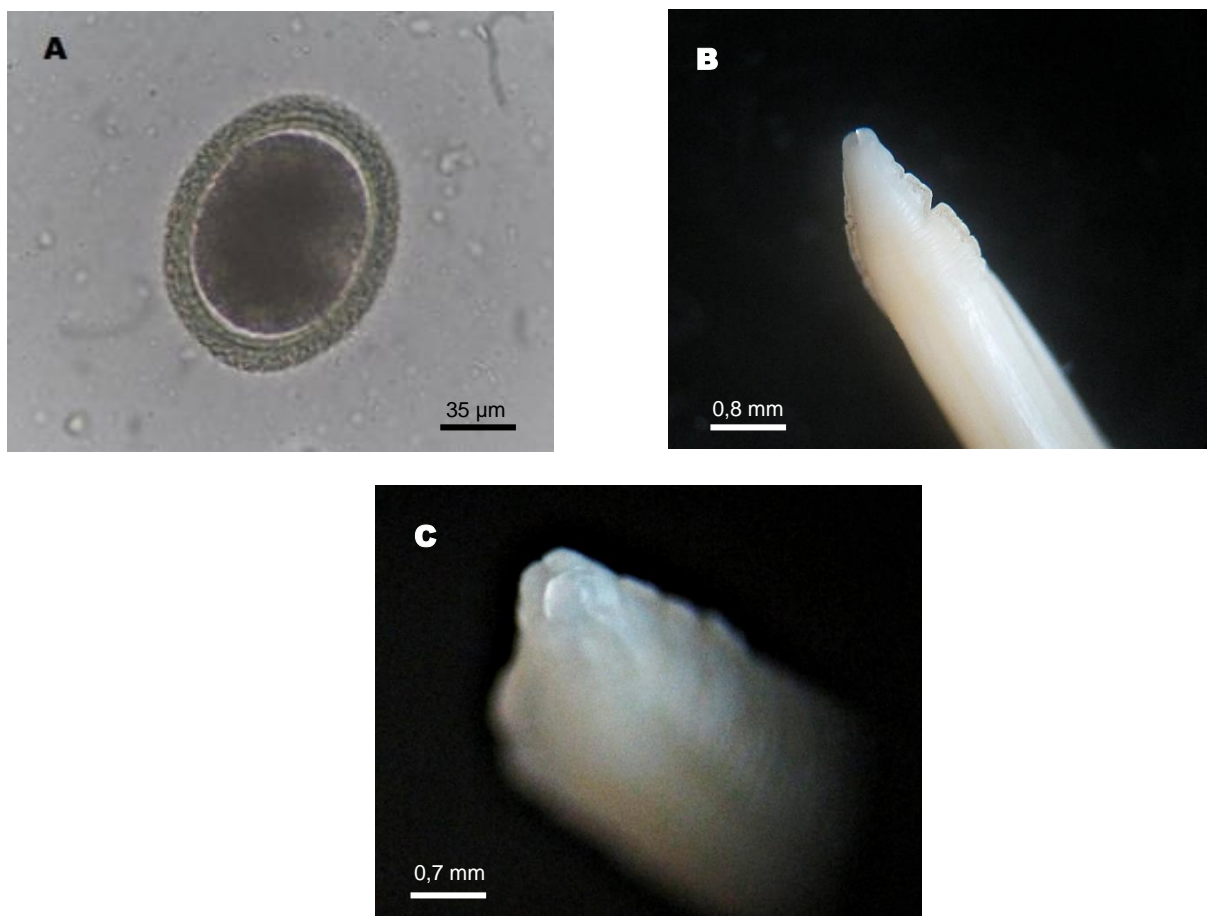
- (1) Transmissão transplacentária e transmamária do parasita da mãe para os cachorros;
- (2) Excreção de ovos não embrionados nas fezes;
- (3) Maturação do ovo no meio ambiente;
- (4) Ingestão de ovos presentes no solo pelo hospedeiro definitivo;
- (5) Ingestão de ovos presentes no solo por hospedeiros paratênicos;
- (6) Ingestão dos hospedeiros paratênicos pelo hospedeiro definitivo;
- (7) Ingestão de ovos presentes no solo por hospedeiros acidentais (Homem).

2.1.2. Diagnóstico

A detecção dos ovos em laboratório é geralmente realizada através de métodos de flutuação (simples ou com centrifugação), com posterior observação e identificação em microscópio ótico (Zajac & Conboy, 2012). Os ovos têm uma forma sub-esférica, com uma parede externa de aparência rugosa, apresentam coloração acastanhada e medem entre 75 a 90 μm de diâmetro (Ballweber, 2001). Na Figura 9-A observa-se um ovo de *T. canis*. Há também que ter em conta os hábitos de coprofagia dos cães na altura do diagnóstico, de maneira a se distinguir uma infecção patente de uma passagem de ovos pelo organismo sem infecção (Deplazes *et al.*, 2011). Como acontece para outros parasitas, devem ser sempre recolhidas amostras regularmente e durante alguns dias consecutivos para que se confirme a infecção (Nijssse, Mughini-Gras, Wagenaar & Ploeger, 2014). Os parasitas adultos podem ser encontrados no intestino delgado em situações em que a necrópsia se imponha. Medem 3 a 10 cm, são brancos e facilmente identificáveis (Ballweber, 2001). À lupa podem distinguir-se

um par de asas cervicais longas e estreitas, e a boca trilabiada característica dos ascarídeos, conforme é visível na Figura 9.

Figura 9 - Formas de *Toxocara canis*: A) ovo embrionado; B) forma adulta, com pormenor nas asas cervicais; C) forma adulta com pormenor na boca trilabiada (fotografias originais).



2.1.3. Risco zoonótico

A infeção parasitária com agentes do género *Toxocara* em humanos é responsável pelas síndromes de Larva Migrante Visceral [LMV] e Larva Migrante Ocular [LMO], principalmente *T. canis* e *T. cati*, embora se pense que a primeira espécie terá um maior potencial zoonótico (Dhaliwal & Juyal, 2013). Por esse motivo, o cão é o principal hospedeiro reservatório de infeções para humanos. Os humanos, principalmente crianças e bebés, infetam-se após ingestão de ovos embrionados do nemátode presentes em solo contaminado por fezes de cães parasitados (Deplazes *et al.*, 2011; Dhaliwal & Juyal, 2013). A infeção é mais comum em crianças devido a hábitos de higiene inadequados, maior contacto com a terra em parques ou caixas de areia e hábitos de geofagia (Robertson & Thompson, 2002). Os ovos, extremamente resistentes no ambiente, podem já estar depositados há alguns meses (Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007). Deplazes *et al.* (2011) descrevem ainda como possíveis factores para infeção: a ingestão de legumes crus ou inadequada lavagem das mãos e o consumo de

tecidos crus de hospedeiros paraténicos (gado bovino e ovino). Embora os ovos do parasita possam também estar presentes no pelo dos animais (Roddie, Stafford, Holland & Wolfe, 2008; Wolfe & Wright, 2003; Amaral *et al.*, 2010), o contacto direto do ser humano com o seu animal de companhia pode não ser tido como fator de risco, uma vez que estes ovos não têm as condições de maturação ideais e que geralmente estão tão aderentes ao pelo dos animais que a ingestão do número suficiente de ovos para causar uma infeção significativa é extremamente improvável (Deplazes *et al.*, 2011). Estudos realizados nesta forma de transmissão mostram que os ovos surgem mais em animais de pelo curto e quase exclusivamente (99% dos casos) em cachorros, mesmo quando as flutuações fecais são negativas (Amaral *et al.*, 2010).

Depois da ingestão pelos seres humanos, as larvas migram pelos tecidos até que são aprisionadas por ação da resposta inflamatória do hospedeiro, formando granulomas. A gravidade da doença e sintomatologia apresentada dependem dos tecidos envolvidos e do número de larvas migrantes (Ballweber, 2001). A síndrome de LMO resulta também da formação de granulomas no olho, mais concretamente, na retina, e deve ser feito o diagnóstico diferencial de retinoblastoma. Muitas das vezes, na presença de LMO não há sinais noutros compartimentos orgânicos (Robertson & Thompson, 2002). Para além das síndromes já referidas, Deplazes *et al.* (2011) referem ainda uma relação direta entre a seroprevalência de *Toxocara* sp. e a incidência de asma, aumento das IgE séricas, presença de IgE alergeno-específicas e eosinofilia.

O diagnóstico de *Toxocara* spp. em humanos é baseado na sintomatologia presente, nos resultados laboratoriais (normalmente eosinofilia periférica e valores aumentados de IgE) e em testes serológicos como ELISA ou Western Blot (Deplazes *et al.*, 2011). No caso de síndrome de LMO, os anticorpos séricos podem não fornecer dados de diagnóstico; sugere-se então a medição dos anticorpos intra-oculares (Deplazes *et al.*, 2011).

2.1.4. Terapêutica e controlo

Devido à possibilidade de transmissão transplacentária, deve assumir-se que todos os cachorros estão infetados ao nascimento (Bowman, 2009). O controlo da parasitose passa portanto por desparasitação profilática com anti-helmínticos apropriados (neste caso, inicialmente apenas o pamoato de pirantel) às 2 semanas de idade e, posteriormente, de 2 em 2 semanas até atingir as 8 ou 12 semanas de idade, o que permite cobrir também a possibilidade de transmissão lactogénica (Bowman, 2009; Deplazes *et al.*, 2011). Para além do pamoato de pirantel outros anti-helmínticos estão disponíveis para a desparasitação adequada: a partir das 3 semanas de idade está aconselhada a associação com o febantel e o praziquantel (Bowman, 2009), a partir das 4 semanas de idade, está também recomendada a milbemicina e a partir das 6 semanas pode associar-se o pamoato de pirantel associado a

febendazol ou ivermectina. A formulação de ivermectina com pamoato de pirantel e praziquantel só é recomendada a partir das 8 semanas de idade (Bowman, 2009). A associação de emodepside com praziquantel está também descrita para a prevenção e terapêutica deste agente (Alho, Seixas, Rafael & Madeira de Carvalho, 2010). Para prevenir a infecção das ninhadas, as cadelas reprodutoras devem ser desparasitadas adequadamente no momento do cruzamento e duas semanas antes do parto. Devem ainda ser desparasitadas em conjunto com os cachorros até ao momento do desmame (Deplazes *et al.*, 2011). A desparasitação profilática deve depois manter-se, a partir dos 6 meses de idade, pelo menos 4 vezes por ano.

A remoção frequente das fezes dos animais permite também o controlo da transmissão zoonótica, visto que os ovos necessitam de um período mínimo de 3 semanas para se tornarem infetantes no ambiente. Os cuidados de higiene são essenciais, principalmente nas crianças, após o contacto direto com os animais, com as fezes ou com solo ou alimentos possivelmente contaminados, para evitar a ingestão de ovos embrionados (Robertson & Thompson, 2002)

2.2. *Toxascaris leonina*

2.2.1. Etiologia

Este nemátode localiza-se no intestino delgado de cães, gatos e canídeos e felídeos silvestres, tendo uma distribuição mundial. O ciclo biológico é bastante semelhante ao de *Toxocara* spp., sem estarem no entanto descritas as vias de transmissão transmamária e transplacentária. *T. leonina* é menos frequente e também menos patogénico do que *T. canis* (Zajac & Conboy, 2012). Os sinais clínicos podem passar por atrasos de crescimento, abdómen dilatado e diarreia ligeira intermitente (Ballweber, 2001).

2.2.2. Diagnóstico

O diagnóstico passa também pela flutuação fecal. Os ovos distinguem-se dos de *T. canis* por terem uma forma elíptica, com uma parede externa e superfície interna da parede de aparência estriada (Zajac & Conboy, 2012).

2.2.3. Terapêutica e Controlo

O tratamento desta parasitose é conseguido pela administração de antihelmínticos comuns, com princípios ativos como a ivermectina, febendazol, milbemicina, selamectina e combinações de febantel com pirantel e praziquantel ou de emodepside com praziquantel (Nelson & Couto, 2009; Alho *et al.*, 2010).

2.3. *Ancylostoma* spp. e *Uncinaria* sp.

2.3.1. Etiologia

Na família Ancylostomatidae incluem-se nemátodes importantes para a saúde animal e pública, como *Ancylostoma caninum*, *A. braziliense*, *A. ceylanicum*, *A. tubaeforme* e *Uncinaria stenocephala*. Destas espécies, *A. braziliense* é endêmica em zonas tropicais e sub-tropicais, sendo as espécies mais comuns em zonas temperadas *A. caninum* e *U. stenocephala*. A família Ancylostomatidae acaba, portanto, por ter uma distribuição global (Ballweber, 2001; Dhaliwal & Juyal, 2013).

O ciclo biológico destes parasitas é direto, com possibilidade de ocorrência de ciclos indiretos na presença de hospedeiros paratênicos (Ballweber, 2001). A forma eliminada nas fezes dos animais parasitados é o ovo com mórula de 8 blastômeros (ovo tipo ancilostomatídeo), que em alguns dias se desenvolve no solo até à forma infetante: a larva L3 (Ballweber, 2001; Robertson & Thompson, 2002). Estas penetram a pele dos hospedeiros, migrando depois, no caso dos carnívoros, para o intestino delgado, onde se desenvolvem até ao estado adulto (Dhaliwal & Juyal, 2013). Nos cães, a transmissão de *A. caninum* é ainda feita por via transmamária, ingestão de formas larvares L3 presentes no ambiente e por via transplacentária. No caso de *U. stenocephala*, a forma de transmissão mais importante é a ingestão de L3 e de hospedeiros paratênicos, sendo que a penetração cutânea acontece mais raramente (Zajac & Conboy, 2012). O período pré-patente varia consoante a via de transmissão (Ballweber, 2001). Larvas enquistadas na musculatura dos hospedeiros podem também ser reativadas em situações de perda de imunidade ou tratamentos com anti-helmínticos, promovendo a recolonização do intestino delgado (Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007).

Nos animais afetados com *A. caninum*, os sinais clínicos são variáveis, causando na maioria dos casos diarreia; no entanto em cachorros com elevadas cargas parasitárias, e devido à alimentação hematófaga destes parasitas, pode surgir uma anemia significativa, que pode ser fatal para os animais (Zajac & Conboy, 2012; Dhaliwal & Juyal, 2013). Ballweber (2001) descreve ainda a possível ocorrência de dermatites e pneumonias, associadas à migração das larvas. A gravidade da doença apresentada pelo animal depende da sua idade e estado imunitário mas também das espécies afetadas: *A. caninum* tende a ser a espécie mais patogénica e *U. stenocephala* responsável apenas por doença subclínica (Ballweber, 2001).

2.3.2. Diagnóstico

A flutuação fecal é geralmente o método de diagnóstico de eleição, revelando ovos com uma parede fina, que contêm uma mórula com 2 a 8 células (Ballweber, 2001). A distinção dos

diferentes ovos de ancilostomatídeos faz-se através das suas dimensões. Na Figura 10 encontra-se representado um ovo de tipo ancilostomatídeo e na Tabela 2 as dimensões normais para as espécies mais comuns na Europa, *A. caninum* e *U. stenocephala*. Os parasitas adultos de *A. caninum* têm cerca de 3 cm de comprimento e a extremidade anterior está dobrada dorsalmente, apresentando um aspeto de gancho (Ballweber, 2001).

Figura 10 - Ovo de tipo ancilostomatídeo (fotografia original).



Tabela 2 - Dimensões médias dos ovos de *A. caninum* e *U. stenocephala* (adaptado de Zajac & Conboy, 2012).

| Espécie | Dimensões (μm) | |
|-------------------------------|----------------|---------|
| | Comprimento | Largura |
| <i>Ancylostoma caninum</i> | 52-79 | 28-58 |
| <i>Uncinaria stenocephala</i> | 71-92 | 35-58 |

2.3.3. Risco zoonótico

No caso dos humanos, as larvas L3 penetram na pele após o contacto com solo contaminado por fezes de cães infetados (Robertson & Thompson, 2002). As larvas permanecem alojadas na pele, causando uma dermatite linear eritematosa e pruriginosa, conhecida por síndrome de Larva Migrante Cutânea [LMC] (Robertson *et al.*, 2000; Robertson & Thompson, 2002; Dhaliwal & Juyal, 2013). Esta síndrome é causada por vários ancilostomatídeos, entre eles: *A. braziliense*, *A. caninum*, *A. ceylanicum*, *A. tubaeforme* e *U. stenocephala* (Dhaliwal & Juyal, 2013). É mais comum em áreas com uma humidade elevada, e em pessoas que caminhem descalças em solos contaminados (Walker *et al.*, 1995 citado em Robertson & Thompson, 2002). As lesões tendem a ser autolimitantes, mas em infecções com cargas parasitárias muito elevadas, as larvas podem migrar para os pulmões ou intestinos, causando sintomas relacionados com as respetivas localizações (Robertson *et al.*, 2000). *A. caninum* é ainda responsável pela enterite eosinofílica humana, doença caracterizada por dor e distensão abdominal, diarreia, perda de peso e hemorragia retal (Ballweber, 2001; Robertson & Thompson, 2002; Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007).

2.3.4. Terapêutica e controlo

A terapêutica e prevenção da parasitose em cães passa pela utilização de anti-helmínticos comuns, com substâncias ativas como pamoato de pirantel, febantel, fenbendazol,

mebendazol, milbemicina, moxidectina e emodepside com praziquantel de acordo com as indicações do fabricante (Alho *et al.*, 2010)

A prevenção da ocorrência de LMC e enterite eosinofílica humana passa igualmente por prevenir a infeção dos animais domésticos, o que se consegue com desparasitações adequadas, não deixar os animais defecarem em locais públicos como parques de crianças ou caixas de areia, recolher as fezes dos animais regularmente e uso de calçado adequado em áreas possivelmente contaminadas. Como para outras zoonoses, a redução do número de animais errantes e educação da população acerca da doença e modos de transmissão mostram-se essenciais para um controlo eficaz (Ballweber, 2001; Robertson & Thompson, 2002).

2.4. *Trichuris vulpis*

2.4.1. Etiologia

A espécie *Trichuris vulpis* é a única do género *Trichuris* identificada em cães e outros carnívoros silvestres, apresentando uma distribuição global. A transmissão do parasita faz-se por via oral-fecal, devido a solo ou água contaminadas pelas fezes de animais infetados. A forma infetante é o ovo, que no intestino delgado do hospedeiro liberta a larva L1. Esta chega ao intestino grosso onde sofre múltiplas mudas até chegar ao estado adulto (Zajac & Conboy, 2012; Dhaliwal & Juyal, 2013).

Geralmente os animais parasitados por *T. vulpis* não apresentam sinais clínicos; no entanto em infeções com fortes cargas parasitárias podem surgir sinais gastrointestinais, dos quais o mais comum é a diarreia, por vezes sanguinolenta (Dhaliwal & Juyal, 2013). Também perda de peso e atrasos de crescimento podem estar presentes (Zajac & Conboy, 2012).

2.4.2. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial é efetuado por flutuação fecal, preferencialmente após centrifugação. Os ovos podem ser depois identificados em microscópio ótico: são castanhos, com forma de barril, com dois opérculos simétricos nas extremidades (Zajac & Conboy, 2012).

2.4.3. Risco zoonótico

Raras vezes foram reportados casos de *T. vulpis* em humanos (Ballweber, 2001). Nestes casos, os sintomas são variáveis, desde portadores assintomáticos até presença de diarreia intensa. A maioria dos pacientes identificados são crianças (Dunn, Columbus, Aldeen, Davis & Carroll, 2002).

2.4.4. Terapêutica e controlo

Tal como para os ascarídeos, estão descritos para terapêutica desparasitantes com substâncias ativas como o febendazol, o mebendazol, a associação de emodepside com praziquantel, a moxidectina, a associação de pirantel com febantel e praziquantel, e a milbemicina (Alho *et al.*, 2010).

2.5. *Strongyloides stercoralis*

2.5.1. Etiologia

De distribuição global, este nemátode da família Strongyloididae afeta cães e gatos, e também o Homem, embora a transmissão direta entre indivíduos de diferentes espécies não esteja ainda bem definida (Dhaliwal & Juyal, 2013). *S. stercoralis* apresenta um ciclo biológico direto, em que a infeção surge por via percutânea ou por autoinfeção. Esta última ocorre quando a larva L1 que, em situações normais é expelida nas fezes, permanece no intestino e se desenvolve até L3 – a forma infetante. Nestes casos, a larva L3 penetra a mucosa e migra como se de uma infeção percutânea se tratasse (Ballweber, 2001).

Nos animais domésticos, a doença é menos comum do que outras helmintoses (Bugg, Robertson, Elliot & Thompson, 1999), sendo mais frequente em cachorros, e geralmente autolimitante. Os hospedeiros podem ser assintomáticos ou apresentar apenas sinais ligeiros, como dermatite, enterite catarral, diarreia mucoide ou sanguinolenta e desidratação (Ballweber, 2001).

2.5.2. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado com base em técnicas de flutuação fecal, técnica de Baermann (Ballweber, 2001), ou ainda testes imunológicos, como Western blot, ELISA ou IFAT (Dhaliwal & Juyal, 2013). Nas flutuações fecais surgem os ovos, de forma oval, muito pequenos e transparentes, com a forma L1 no seu interior.

2.5.3. Risco zoonótico

Em humanos, *S. stercoralis* pode ser um agente de LMC (Ballweber, 2001). A doença ocorre após contacto cutâneo direto com solos contaminados, e tem uma fase inicial assintomática, desenvolvendo-se depois sinais cutâneos (prurido, urticária), respiratórios (tosse, bronquite crónica) e intestinais (dor abdominal, diarreia, obstipação). Em indivíduos imunocomprometidos, a dispersão do parasita pelo organismo pode mesmo causar uma hiperinfeção fatal (Robertson & Thompson, 2002; Dhaliwal & Juyal, 2013).

2.5.4. Terapêutica e controlo

O tratamento de infeções com *S. stercoralis* em cães é realizado com recurso a fármacos como a selamectina, o febendazol, o mebendazol e associações de febantel com praziquantel e pirantel (Alho *et al.*, 2010). Em humanos, o anti-helmíntico de eleição utilizado é a ivermectina (Bowman, 2009).

2.6. *Angiostrongylus vasorum*

2.6.1. Etiologia

Angiostrongylus vasorum é um nemátode presente em várias zonas do globo (Europa, Canadá, América do Sul, África), que afeta os cães e as raposas, localizando-se nas suas artérias pulmonares e ventrículo direito (Zajac & Conboy, 2012). Embora seja um parasita com implicações nos aparelhos respiratório e cardiovascular, é detetado maioritariamente pela presença das suas larvas L1 em exames coprológicos e, por esse motivo, é muitas vezes pesquisado em conjunto com parasitas gastrointestinais.

Este parasita apresenta um ciclo biológico indireto, em que as larvas L1 são eliminadas nas fezes dos cães infetados. Os hospedeiros intermediários do parasita (moluscos gastrópodes) são infetados por esta forma larvar, e albergam as larvas durante as mudas até L3, as formas infetantes para os cães, que ao ingerirem os hospedeiros intermediários completam o ciclo (Koch & Willeesen, 2007; Zajac & Conboy, 2012).

Nos cães, a angiostrongilose pode ter uma apresentação clínica muito variada, desde doença subclínica ou apenas com sinais ligeiros, até sinais bastante graves que possam colocar em risco a vida do animal. Os sinais clássicos são os da pneumonia devido à migração do parasita, incluindo dispneia e tosse. Na auscultação torácica podem ouvir-se fervores e em casos mais graves, sopro cardíaco sistólico por regurgitação tricúspide (Koch & Willeesen, 2007). Perturbações na hemostase, como petéquias ou equimoses, também podem estar presentes.

2.6.2. Diagnóstico

O diagnóstico da doença é realizado com base nos sinais clínicos apresentados pelo animal, e geralmente envolve também o uso de imagiologia e patologia clínica. Deve ser efetuado o diagnóstico diferencial com outros parasitas cardiopulmonares, como *Capillaria aerophila* e *Dirofilaria immitis*, e também com doenças pulmonares não parasitárias. A identificação do parasita é necessária para chegar a um diagnóstico definitivo (Koch & Willesen, 2007). O método de diagnóstico de eleição é a técnica de Baermann (Koch & Willesen, 2007; Alho *et al.*, 2013), mas também pode ser realizado por flutuação fecal, lavagens broncoalveolares ou traqueais, ou observação microscópica do sedimento urinário, que também pode conter larvas L1 (Koch & Willesen, 2007). As larvas L1 (presentes no hospedeiro definitivo) identificam-se pela curvatura em forma de 'S' na extremidade posterior (Zajac & Conboy, 2012; Alho *et al.*, 2013), conforme consta na Figura 11.

Figura 11 - Larva de 1º estágio de *Angiostrongylus vasorum* (fonte: Alho *et al.*, 2013).



Métodos serológicos (ELISA e Western blot) e moleculares (PCR) estão também desenvolvidos para *A. vasorum*. O método ELISA para anticorpos circulantes mostra-se particularmente promissor, apresentando sensibilidade de 92% e especificidade de 100% (Koch & Willesen, 2007).

2.6.3. Risco zoonótico

Embora *Angiostrongylus vasorum* não seja zoonótico, outras espécies do mesmo género apresentam características zoonóticas, podendo causar no ser humano angiostrongilose intestinal ou meningite eosinofílica. Tratam-se, respetivamente, de *A. costaricensis* e *A. cantonensis*, e o ser humano pode ficar infetado após consumo dos hospedeiros intermediários ou paraténicos crus. Nenhuma das duas espécies é endémica no continente europeu (Dhaliwal & Juyal, 2013). *A. cantonensis* já foi descrito em cães, humanos, cavalos e

ratos, em países do Pacífico, tendo-se expandido em proporção direta com o seu hospedeiro intermediário, *Achantina fulica*. *A. costaricensis* tem como hospedeiros definitivos os roedores, tendo sido descrito na América Central e do Sul. As infecções em humanos surgem acidentalmente após ingestão dos hospedeiros intermediários crus, causando dor abdominal, vômitos e febre (Bowman, 2009).

2.6.4. Terapêutica e controlo

A terapêutica aconselhada é o uso de anti-helmínticos eficazes, como o fenbendazol, associações de febantel com praziquantel e pirantel, associações de emodepside com praziquantel, moxidectina ou milbemicina (Alho *et al.*, 2010). Deve ainda ser instituída terapêutica de suporte ao animal, consoante a sintomatologia apresentada à altura do diagnóstico. A profilaxia do agente deve ser efetuada com os princípios ativos já indicados, de acordo com as indicações do fabricante (Koch & Willeesen, 2007).

3. Protozoários

Os protozoários são organismos unicelulares, com distintos tamanhos e formas, dos quais apenas um pequeno número é parasita obrigatório, e muitos deles são apatogénicos (Ballweber, 2001). Alguns protozoários, como *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. são cada vez mais diagnosticados graças à melhoria nos processos de diagnóstico, como os testes baseados em biologia molecular (Irwin, 2002), juntando-se inclusive, em 2004, à lista de doenças negligenciadas da Organização Mundial de Saúde [OMS] (Savioli, Smith, & Thompson, 2006).

3.1. *Giardia* spp.

3.1.1. Etiologia

Giardia duodenalis é um protozoário intestinal flagelado e patogénico que pode afetar a maior parte dos mamíferos, incluindo o ser humano, e que se encontra mundialmente distribuído (Irwin, 2002; Dhaliwal & Juyal, 2013). A correta nomenclatura deste género está sob constante atualização, sendo atualmente aceite que *G. duodenalis* se divide em 7 *assemblages* (de A a G), designação dada aos diferentes grupos de acordo com a sua análise genética e hospedeiros afetados (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Os cães são afetados por parasitas das *assemblages* C e D maioritariamente (Zajac & Conboy, 2012), embora também possam ter presentes os *assemblages* A e B, que correspondem a *assemblages* zoonóticos (Monis, Caccio & Thompson, 2008; Tangtrongsup & Scorza, 2010).

O parasita localiza-se no intestino delgado dos hospedeiros, e no caso dos cães e dos gatos os sinais clínicos mais comuns são diarreia (aguda, crónica ou intermitente) com odor pútrido

intenso, esteatorreia, vômitos, desidratação e anorexia, sendo mais comuns em animais jovens. Muitas vezes a infecção é assintomática (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012). Esta parasitose causa atrofia das vilosidades intestinais e hiperplasia das criptas, o que resulta numa diminuição da superfície de absorção do intestino delgado, com consequente diminuição de absorção de água, glucose e sódio (Ballweber, 2001). O ciclo biológico do parasita é direto e a transmissão ocorre por via oral-fecal, quando os hospedeiros ingerem os quistos de *Giardia* presentes nas fezes dos animais infetados. Comumente a fonte de infecção é a água ou alimentos contaminados pelas fezes (Ballweber, 2001; Dhaliwal & Juyal, 2013).

Cada quisto contém dois trofozoítos que, após a ingestão, se libertam e ligam-se à bordadura em escova do jejuno. Multiplicam-se depois por divisão binária. Cada trofozoíto virá mais tarde a originar um quisto (Ballweber, 2001). Os próprios trofozoítos podem ser eliminados nas fezes, principalmente em infecções agudas, e ser as formas infetantes para outros animais; no entanto, não resistem às condições ambientais adversas como os quistos, sendo portanto de menor importância na transmissão da parasitose (Ballweber, 2001). Na Figura 12 encontram-se representados quistos e um trofozoíto de *Giardia*. O ciclo biológico de *Giardia* encontra-se sistematizado na Figura 13.

Figura 12 - Formas de *Giardia*: A) Quistos de *Giardia* em esfregaço fecal; B) Trofozoíto de *Giardia* (fotografias originais).

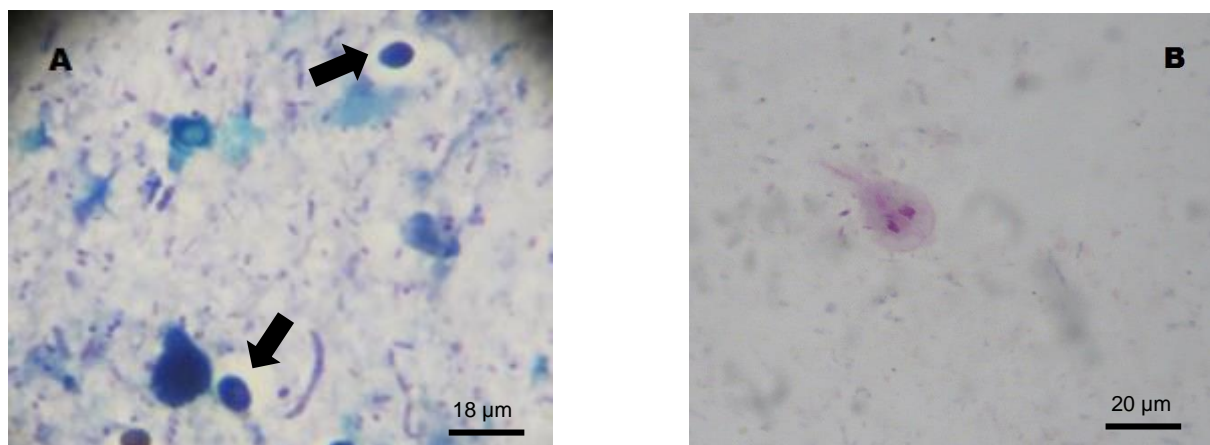
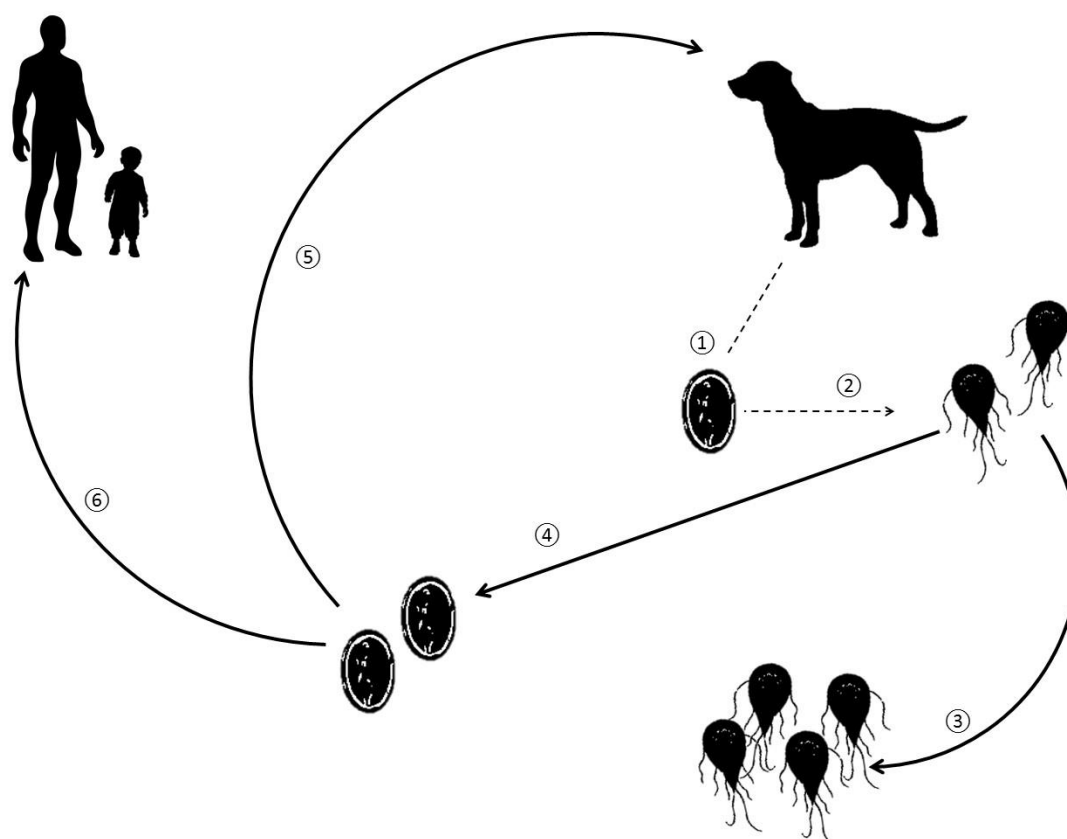


Figura 13 - Ciclo biológico de *Giardia duodenalis* (original).



Legenda:

- (1) Presença de quistos no intestino delgado do hospedeiro;
- (2) Cada quisto origina dois trofozoítos;
- (3) Divisão binária dos trofozoítos;
- (4) Cada trofozoíto origina um quisto, que é excretado nas fezes;
- (5) Ingestão dos quistos presentes no ambiente, alimento e água;
- (6) Ingestão dos quistos por humanos, no caso de *assemblages* zoonóticos (A e B).

3.1.2. Diagnóstico

O método de diagnóstico laboratorial de eleição é a flutuação com sulfato de zinco a 33% com posterior observação e identificação dos quistos ao microscópio ótico (Irwin, 2002; Zajac & Conboy, 2012). Dhaliwal & Juyal (2013) também sugerem a flutuação com solução saturada de sacarose como possível método de diagnóstico, mas este não é o mais aconselhado, visto que outras soluções além do sulfato de zinco podem causar distorção dos quistos, o que dificulta a sua identificação (Zajac & Conboy, 2012). A observação de trofozoítos móveis é possível em esfregaços fecais diretos, durante um período de cerca de 30 minutos (Zajac & Conboy, 2012), mas a sensibilidade desta técnica não ultrapassa os 40% mesmo com técnicos experientes (Irwin, 2002). Qualquer que seja o método de diagnóstico utilizado, devem ser sujeitas a análise fezes de um período alargado de dias (5 a 7 idealmente), visto que a excreção dos quistos é intermitente, e uma única amostra negativa não exclui a infeção

(Irwin, 2002; Zajac & Conboy, 2012). Os quistos são identificados pela sua forma oval, com 9 a 13 x 7 a 10 µm de dimensão. No caso dos trofozoítos, têm forma de pera, bilateralmente simétricos com um disco côncavo na superfície ventral; têm ainda dois núcleos e quatro pares de flagelos, e as suas dimensões são de 9 a 21 x 5 a 15 µm (Ballweber, 2001). Os métodos ELISA e IFAT também estão disponíveis para diagnóstico de *Giardia* (Zajac & Conboy, 2012). Para identificação de *assemblage* é ainda necessário recorrer à biologia molecular, realizando extração de ADN, amplificação por PCR e análise sequencial (Ferreira *et al.*, 2013). Só esta análise permite aferir o potencial zoonótico do parasita presente. Todos os testes de diagnóstico de *Giardia* devem ser cuidadosamente interpretados: deve ser estabelecido se é, efetivamente, o microrganismo que está a causar a doença que o animal apresenta, visto que a presença do parasita muitas vezes não envolve sinais clínicos. Geralmente o diagnóstico é estabelecido quando a amostra fecal é considerada positiva a *Giardia* e o animal apresenta diarreia característica de intestino delgado. A resposta ao tratamento, avaliada por novas análises fecais, vai ainda fornecer ou retirar consistência ao diagnóstico: segundo Irwin (2002), se o paciente, após uma terapêutica eficaz contra *Giardia* mantiver a diarreia, o clínico deve avaliar outras situações clínicas que possam estar subjacentes.

3.1.3. Risco zoonótico

O papel dos animais de companhia na transmissão da parasitose ao Homem é controverso, pelo que a infeção é considerada como “potencialmente zoonótica” (Zajac & Conboy, 2012). Crê-se que a transmissão de *Giardia* entre pessoas é mais frequente e importante do que a transmissão zoonótica, e que o ser humano é o mais importante reservatório da parasitose para a sua própria espécie (Robertson & Thompson, 2002). No entanto, o facto de os cães serem portadores de *assemblages* que também afetam o Homem (especificamente, *assemblages* A e B) faz com que o potencial zoonótico da parasitose não seja de desprezar, especialmente quando se trata de proprietários imunocomprometidos (Robertson *et al.*, 2000; Thompson, Hopkins & Homan, 2000; Monis *et al.*, 2008). Nos humanos infetados, a doença é geralmente assintomática ou subclínica, podendo em alguns casos surgir sintomas inespecíficos como diarreia, flatulência ou dor abdominal (Dhaliwal & Juyal, 2013). Os fatores relacionados com o hospedeiro, como a idade, a imunidade e o estado nutricional determinam a gravidade dos sintomas apresentados. As crianças têm maior tendência a ser afetadas pela parasitose, e apresentam geralmente consequências mais graves (Ferreira *et al.*, 2013).

Poucos quistos são suficientes para a transmissão da infeção, e ainda assim, milhares de quistos são libertados diariamente nas fezes dos animais infetados, o que faz com que a contaminação do solo, água e alimentos seja massiva, e o número de surtos seja bastante relevante, principalmente nos países em desenvolvimento (Macpherson, 2005).

3.1.4. Terapêutica e controlo

Os cães infetados podem ser tratados com metronidazol a 15-25 mg/kg BID, albendazol a 25 mg/kg BID ou febendazol a 50mg/kg SID (Bowman, 2009; Nelson & Couto, 2009; Tangtrongsup & Scorza, 2010; ESCCAP, 2011). As associações de febantel com praziquantel e/ou pirantel estão aconselhadas nas doses adequadas, principalmente quando há suspeita de infeção concomitante com nemátodes ou céstodes. Neste caso, a terapêutica é efetuada durante 3 dias consecutivos (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

A prevenção da transmissão do parasita faz-se através da desinfeção dos locais que o animal frequenta habitualmente com desinfetantes comuns, bem como lavagem adequada dos alimentos ingeridos. As fontes de água devem ser controladas e seguras (Santos, 2014).

3.2. *Cryptosporidium* spp.

3.2.1. Etiologia

Este protozoário da subclasse Coccidea afeta uma grande variedade de animais, incluindo o ser humano e os principais mamíferos domésticos (Irwin, 2002; Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007; Bowman, 2009). Tem uma distribuição global e é patogénico particularmente em indivíduos imunocomprometidos (Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007; Dhaliwal & Juyal, 2013), nos quais se desenvolve uma doença crónica, caracterizada por diarreia aquosa, mal absorção e perda de peso (Irwin, 2002). Em animais saudáveis, a doença é muitas vezes assintomática e autolimitante, resolvendo-se geralmente num período de uma a três semanas (Ballweber, 2001; Irwin, 2002). Os cães afetados têm geralmente menos de 6 meses de idade e vivem em condições de *stress* ou sobrepopulação, ou apresentam uma doença concomitante – frequentemente uma gastroenterite viral (Robertson *et al.*, 2000; Irwin, 2002; Robertson & Thompson, 2002; Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007).

Cryptosporidium spp. tem um ciclo direto e a transmissão do parasita faz-se por via oral-fecal, sendo que os oocistos excretados nas fezes dos hospedeiros serão imediatamente infetantes para outros hospedeiros que os ingiram (Zajac & Conboy, 2012; Dhaliwal & Juyal, 2013). Após a ingestão, os esporozoítos penetram nas mucosas do estômago, intestino delgado, ducto biliar ou trato respiratório, originando duas ou três gerações de merontes (dependendo da espécie) e sofrem reprodução assexuada e produção de oocistos no espaço de 72 horas. Os oocistos esporulados abandonam depois as células, sendo de dois tipos diferentes: os de parede fina, que roturam e reinfetam o hospedeiro, e os de parede espessa que são depois expelidos nas fezes, com grande capacidade de resistência no meio ambiente. O período pré-patente pode ser apenas de 3 dias (Ballweber, 2001). A principal espécie presente em mamíferos é *Cryptosporidium parvum*, mas a biologia molecular começa a fornecer novas

informações sobre genótipos específicos que têm mais afinidade com determinados hospedeiros (Irwin, 2002).

3.2.2. Diagnóstico

A detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes de animais infectados pode ser efetuada por esfregaço fecal com coloração álcool-ácido resistente, por protocolo de imunofluorescência ou pela técnica de ELISA para detecção de antígenos. Métodos como a flutuação em solução saturada de sacarose ou sulfato de zinco também se encontram descritos para o diagnóstico desta parasitose (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012; Dhaliwal & Juyal, 2013). Os métodos microscópicos apresentam as vantagens de serem mais baratos e permitirem a detecção de outras parasitoses que possam decorrer concomitantemente (Bowman & Lucio-Forster, 2010). Não é um parasita particularmente fácil de detetar em clínica, devido à reduzida dimensão dos oocistos, que na maioria dos casos requer que sejam observados por técnicos experientes (Irwin, 2002).

3.2.3. Risco zoonótico

O ser humano pode adquirir a infeção por várias vias de transmissão: contacto com pessoas infectadas, contacto com animais ou ingestão de alimentos ou água contaminados. A importância que cada uma destas vias representa ainda não está totalmente esclarecida; sabe-se no entanto, que *Cryptosporidium parvum* (característico dos ruminantes e do Homem) e *Cryptosporidium hominis* (a espécie associada ao hospedeiro humano) representam aproximadamente 90% dos casos de criptosporidiose em humanos, tendo *Cryptosporidium canis* mais importância nos países em desenvolvimento (Xiao, 2010). Os sintomas em humanos incluem diarreia aquosa, dor abdominal e por vezes febre. Em indivíduos saudáveis, a infeção é aguda e autolimitante, resolvendo-se em uma a duas semanas (Bowman & Lucio-Forster, 2010). Os pacientes imunodeprimidos têm dificuldade em eliminar o parasita, o que pode levar a diarreia crónica com prognóstico reservado (Dhaliwal & Juyal, 2013).

3.2.4. Terapêutica e Controlo

Tal como na Medicina Humana, os veterinários debatem-se ainda com a questão da terapêutica no que se refere à criptosporidiose, devido à falta de um fármaco seguro e eficaz (Irwin, 2002; Bowman, 2009). Nos humanos, atualmente está aprovada a utilização de nitazoxanida para tratamento de diarreia causada por *Cryptosporidium* e *Giardia*. Nos cães recomenda-se o uso de paramomicina 150 mg/kg SID por um período de 5 dias. Outros fármacos como a azitromicina e a tilosina estão também descritos (Scorza & Tantrongsup, 2010). As medidas de prevenção da transmissão incluem boa higiene pessoal e lavagem das mãos após qualquer contacto com fezes ou com produtos que possam ter sido contaminados

por estas. Os cuidados devem ser redobrados quando se tratam de indivíduos imunocomprometidos (Dhaliwal & Juyal, 2013).

3.3. *Cystoisospora* sp.

3.3.1. Etiologia

As espécies do género *Cystoisospora* são as coccídeas mais frequentes dos cães e gatos, com distribuição geográfica mundial, localizando-se ao longo de todo o intestino do seu hospedeiro (Zajac & Conboy, 2012). O ciclo biológico deste parasita é direto, podendo ser indireto na presença de hospedeiros paraténicos, como roedores ou pequenas aves (Ballweber, 2001). A infeção dos cães dá-se por ingestão de oocistos esporulados presentes no meio ambiente ou nos hospedeiros paraténicos (Zajac & Conboy, 2012).

Muitas vezes o protozoário pode estar presente sem qualquer significado clínico; no entanto, principalmente em cachorros e gatinhos sujeitos a variados fatores de *stress*, podem surgir sinais clínicos, como diarreia, dor abdominal, desidratação, anorexia e perda de peso. Em casos mais graves a diarreia pode tornar-se sanguinolenta e levar a anemia (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012).

3.3.2. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial é realizado por flutuação fecal (simples ou precedida de centrifugação). Os oocistos surgem com parede lisa e contém um esporoblasto único quando as amostras fecais são frescas (Zajac & Conboy, 2012). Após esporulação podem observar-se, em cada oocisto, dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (Ballweber, 2001).

3.3.3. Terapêutica e Controlo

A terapêutica de animais infetados com *Cystoisospora canis* passa muitas vezes pelo uso de sulfonamidas, nomeadamente a sulfadimetoxina (Bowman, 2009), mas estes fármacos apenas controlam a diarreia, mantendo-se a excreção de oocistos pelos animais afetados (ESCCAP, 2011). Em cães, recomenda-se o uso de toltrazuril (9 a 20 mg/kg) ou diclazuril (2,5 a 5 mg/kg) em aplicação única, ou ainda a associação de toltrazuril com emodepside (9 + 0,45 mg/kg), quando há suspeita de co-infeção com ascarídeos. Quando se deteta a infeção de um cachorro com *Cystoisospora canis*, todos os irmãos da mesma ninhada devem ser tratados, bem como todos os cachorros que com ele contactem. O controlo da transmissão do parasita passa por medidas de higiene adequadas e remoção diária das fezes dos animais, sobretudo em canis de criação (ESCCAP, 2011).

4. Considerações sobre Saúde Pública e o papel do Médico Veterinário

De acordo com os dados já revelados anteriormente nesta revisão, entende-se que os cães e gatos com funções de animais de companhia podem desempenhar um papel muito significativo na transmissão de parasitoses zoonóticas (Deplazes *et al.*, 2011). Em países com controlo adequado de animais errantes, o maior risco zoonótico advém dos animais com funções de companhia, e que acabam por se concentrar em espaços públicos, como jardins, praias e parques de exercício e/ou lazer. Assim, esses locais acabam por ficar fortemente contaminados e por ser também um importante ponto de contacto com o ser humano, nomeadamente com crianças (Macpherson, 2005). Algumas das parasitoses destes animais podem ser erroneamente diagnosticadas e tratadas de forma inadequada, o que, no caso concreto dos agentes zoonóticos pode vir a significar o aparecimento de doença grave nos proprietários dos animais. A falha no reconhecimento de doenças zoonóticas tem, portanto, implicações graves na saúde pública e pode expor o veterinário a situações litigiosas (Irwin, 2002).

No estudo realizado por Bugg *et al.* (1999), as informações corretas que os donos de cães tinham conhecimento em relação às parasitoses zoonóticas terão sido fornecidas por veterinários, centros de saúde ou escolas, ao passo que as informações incorretas são maioritariamente fornecidas pelos *media*. Este estudo confirmou, portanto que os veterinários são a fonte ideal desta informação, lidando de perto quer com o animal de estimação, quer com o seu proprietário, e estando bem conscientes dos ciclos biológicos dos parasitas que podem afetar ambos. Tendo em mente que o principal objetivo no controlo de parasitoses zoonóticas é quebrar os ciclos de transmissão, a educação torna-se uma peça óbvia e fulcral dos planos de controlo, com o Médico Veterinário assumindo um papel central (Robertson *et al.*, 2000).

É importante que, para além da atividade clínica, os médicos veterinários continuem a assumir o seu papel de educadores da comunidade (Irwin, 2002). No que se refere aos protozoários, embora o risco de transmissão zoonótica seja, muitas vezes, reduzido, os proprietários dos animais devem ter conhecimento de que ele existe, e na presença de algum fator imunossupressor, tem uma importância crescente – é sem dúvida apenas mais um dos argumentos para que se visite o médico veterinário com regularidade e manter os animais de companhia saudáveis (Bowman & Lucio-Forster, 2010). É ainda fulcral que os proprietários de cães tenham consciência de que não são apenas os seus animais que representam um risco para eles; de facto, a co-existência com outros canídeos em locais como os que foram incluídos neste estudo facilita a transmissão de agentes, alguns deles zoonóticos, podendo vir a constituir um risco para a Saúde Animal e Humana. Concretamente, o contacto próximo de animais em canis e hotéis para cães, com sobrepopulação de animais e outros fatores de

stress presentes, representa um risco acrescido, nomeadamente para infeção com o protozoário *Giardia* (Ferreira *et al.*, 2011).

A redução da contaminação do ambiente, principalmente de locais públicos é necessária e integra uma série de passos nos quais o Médico Veterinário está sempre envolvido: campanhas de educação da população, desparasitação eficaz dos animais de companhia e aconselhamento ao proprietário de medidas de higiene e segurança adequadas (Traversa *et al.*, 2014). A disponibilização de sacos para recolha de fezes no centro veterinário e nas próprias freguesias constitui uma medida simples, pouco dispendiosa e que acaba por motivar os donos a recolherem as fezes do seu animal, por exemplo. O Médico Veterinário deve ainda sugerir e executar diagnóstico parasitológico regular no seu centro de atendimento, mesmo quando os animais aparentem estar saudáveis, ao invés de optar pela desparasitação profilática de todos os animais, sem conhecer as prevalências parasitárias na sua região de trabalho (Irwin, 2002; Traversa *et al.*, 2014). Finalmente, os planos de desparasitação introduzidos devem ser de controlo ao longo de todo o ano e não apenas nas alturas mais críticas, ou após diagnóstico de uma parasitose já existente.

III. Rastreio de formas parasitárias em fezes de cães recolhidas em espaços públicos na cidade de Beja

1. Objetivos

Os principais objetivos deste estudo foram:

- i. Detetar formas parasitárias em fezes de cães colhidas em espaços públicos (jardins, parques) de Beja.
- ii. Correlacionar os dados obtidos com Saúde Animal e Saúde Pública no âmbito do conceito One Health, uma vez que os locais de recolha são propensos à transmissão de agentes zoonóticos, entre animais e também entre animais e humanos;
- iii. Divulgar a informação obtida a nível local, com os clínicos do HVBA para que estes tenham conhecimento do parasitismo que afeta a região e possam adequar as estratégias de desparasitação adequadas ao parasitismo diagnosticado.

É ainda importante salientar que se pretendeu neste estudo recolher amostras aleatoriamente, sem estratificar os animais por grupo etário ou por sexo ou por qualquer outra característica. O propósito do estudo foi, precisamente, caracterizar o parasitismo dos animais da região de Beja o mais aleatoriamente possível.

2. Material e Métodos

2.1. Caracterização da população canina

Com uma área total de cerca de 72 km², a cidade de Beja encontra-se distribuída por 4 freguesias: Salvador, Santa Maria da Feira, São João Baptista e Santiago Maior. Segundo dados das respetivas Juntas de Freguesia, foram licenciados, no ano de 2013, 222 cães na União das freguesias de Salvador e Santa Maria da Feira, e 220 cães na União das freguesias de Santiago Maior e São João Baptista, perfazendo um total de 442 cães licenciados na cidade nesse ano. Segundo os dados dos Censos de 2011, a cidade de Beja registava um total de 25 148 habitantes.

2.2. Locais de recolha

As amostras para este estudo foram recolhidas na cidade de Beja, em parques de lazer e jardins públicos, locais onde frequentemente os proprietários levam os seus animais e onde estes defecam. No Anexo 1 (Figura 20) são assinalados geograficamente os pontos de recolha selecionados numa planta da cidade.

Os jardins e parques selecionados têm dimensões variadas e localizam-se em várias zonas da cidade. Assim, reconhecem-se 13 locais diferentes de recolha de amostras:

- A: espaço de lazer, com cerca de 7000 m², com pavimento em relva e terra, localizado na zona noroeste da cidade;
- B: rua em zona habitacional, com dois pequenos jardins relvados, num total de cerca de 900 m²;
- C: conjunto de pequenos jardins relvados que circundam a área do HVBA, num total de cerca de 1200 m²;
- D: rua em zona habitacional, com um pequeno jardim relvado, com cerca de 100 m²;
- E: praça situada em zona habitacional, com pavimento em calçada e relva, com uma área de cerca de 1300 m²;
- F: zona habitacional com pequenos trilhos e jardins, num total de cerca de 1800 m²;
- G: jardim em área habitacional, com pavimento em calçada, terra e relva, com uma área de cerca de 1600 m²;
- H: praça com centro relvado, localizada em área habitacional e empresarial, com uma área de cerca de 600 m²;
- I: zona residencial com pequenas áreas de jardim entre os edifícios, com pavimento essencialmente em relva e calçada, e com cerca de 2000 m²;
- J: conjunto de pequenos jardins relvados na periferia da cidade, em zona empresarial e habitacional, com uma área total de 1600 m²;
- L: jardim relvado localizado no centro histórico da cidade, perto de áreas residenciais, e com uma área de cerca de 3000 m²;
- M: conjunto de pequenas áreas relvadas, localizadas em zona habitacional e empresarial, com uma área total de cerca de 400 m²;
- N: jardim relvado localizado em zona habitacional e empresarial, com uma área de cerca de 320 m².

2.3. Período de recolha

As amostras, expostas no ambiente, foram recolhidas na semana de 17 a 21 de março de 2014, em períodos variáveis de cada dia, dando-se sempre preferência aos períodos da manhã ou do final de tarde, por se verificarem temperaturas mais amenas. As temperaturas médias na altura eram de 20 a 25°C, sem ocorrência de precipitação durante toda a semana.

2.4. Amostras

Foram consideradas amostras válidas para este estudo todas as fezes de cão encontradas nos locais de recolha durante o período indicado, exceto aquelas que se encontravam com aspeto ressequido ou degradado. Assim, todas as fezes frescas e com dimensão suficiente para a realização das análises pretendidas foram recolhidas em sacos de plástico próprios para o efeito, e refrigeradas de imediato em mala refrigeradora (a 4°C) até ao momento da sua análise no laboratório, que aconteceu num período máximo de 30 dias. As amostras foram

ainda identificadas de acordo com o local e data de recolha e numeradas para posterior identificação.

2.5. Técnicas laboratoriais utilizadas na análise das amostras

A partir do dia 24 de março de 2014 iniciou-se a análise das amostras no laboratório.

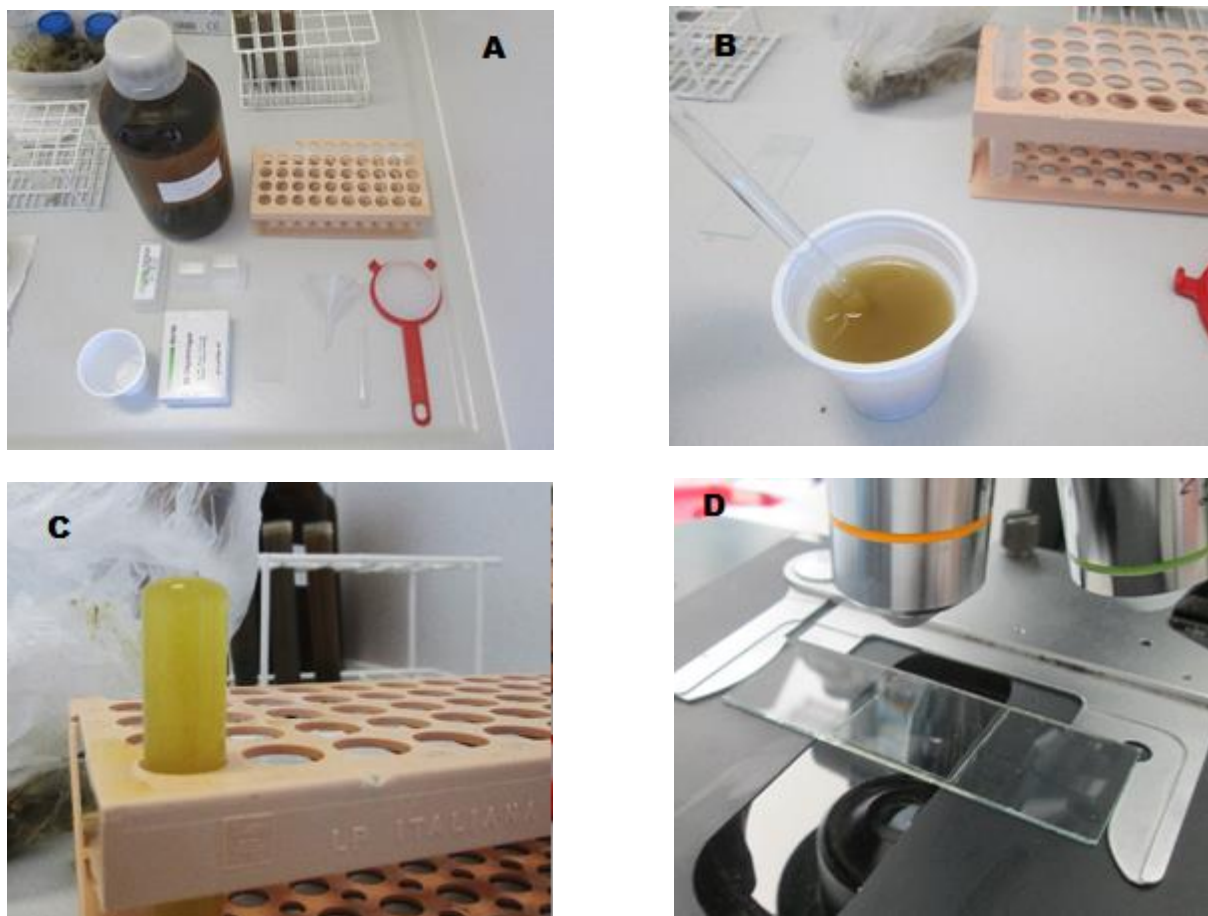
2.5.1. Exame macroscópico

Cada amostra foi observada macroscopicamente para pesquisa de parasitas adultos, nomeadamente, céstodes ou nemátodes. A consistência das fezes foi outro dos aspetos a ter em conta.

2.5.2. Técnica de flutuação de Willis

Cada amostra de fezes foi homogeneizada e retirou-se uma pequena porção (cerca de 1 a 2 g) para proceder ao protocolo de flutuação em solução saturada de sacarose (técnica de Willis). A amostra foi diluída na solução saturada de sacarose com o auxílio de uma vareta de vidro (Figura 14-B) e posteriormente filtrada, com recurso a um passador e funil de vidro para um tubo de ensaio, formando um menisco convexo (Figura 14-C). Foi colocada de imediato uma lamela no topo do tubo, que foi recolhida após um período mínimo de 15 minutos, e colocada numa lâmina para observação ao microscópio ótico. As lâminas obtidas através deste processo foram observadas na sua totalidade, numa ampliação de 400x para pesquisa de ovos de nemátodes e céstodes, bem como de oocistos/quistos de protozoários (Figura 14-D).

Figura 14 - Método de Willis: A) preparação do material necessário; B) diluição da amostra em solução saturada de sacarose; C) filtração da amostra com formação de um menisco convexo; D) observação ao microscópio ótico, em ampliação de 400x (fotografias originais).



2.5.3. Técnica de Baermann

Uma segunda porção de cada uma das amostras foi utilizada para realização do método de concentração de larvas de parasitas pulmonares pela técnica de Baermann (Figura 15). Para esta técnica, a amostra foi envolvida numa compressa de gaze (Figura 15-B) e colocada num copo de vidro cónico, com água morna, para que ficasse em suspensão na água. Após um período de 24 horas (Figura 15-C), a amostra foi retirada do copo, e permitiu-se que as partículas em suspensão sedimentassem, aguardando-se cerca de 15 minutos. Seguidamente, com uma pipeta de Pasteur, retirou-se parte do sedimento (Figura 15-D), que foi colocado entre lâmina e lamela. As lâminas resultantes desta técnica foram observadas na sua totalidade em microscópio ótico numa ampliação de 100x e 400x.

Figura 15 - Técnica de Baermann: A) preparação do material necessário; B) criação de uma "boneca" com a amostra envolvida em gaze; C) repouso durante 24 horas; D) recolha do sedimento para observação no microscópio ótico (fotografias originais).



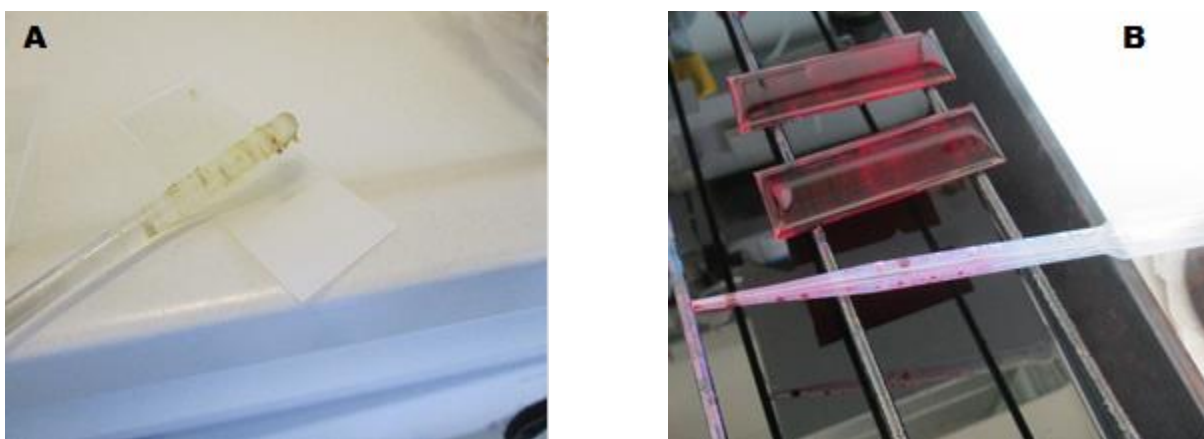
2.5.4. Esfregaço fecal

Foram também realizados dois esfregaços fecais por cada amostra, retirando uma pequena porção de fezes com uma vareta de vidro e distribuindo numa lâmina de modo a formar uma fina camada (Figura 16-A). Após secagem ao ar, todos os esfregaços foram fixados com metanol durante 1 minuto. Posteriormente, para cada amostra, um dos esfregaços fecais realizados foi corado com Giemsa, e o outro pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

No caso dos esfregaços corados com Giemsa, após a fixação, a lâmina foi coberta com o corante Giemsa durante cerca de 90 segundos. A lâmina foi então lavada em água corrente e deixada a secar a temperatura ambiente. Foi observada a totalidade de cada lâmina, em ampliações de 100x e 400x, para pesquisa de helmintes e protozoários.

No que se refere à técnica de Ziehl-Neelsen modificada, depois da fixação pelo metanol, as lâminas foram cobertas com fucsina durante 10 minutos (Figura 16-B), após os quais foram lavadas em água corrente. Foram posteriormente lavadas com álcool clorídrico a 1% para retirar o excesso de fucsina, e procedeu-se novamente à lavagem com água corrente. Seguidamente, as lâminas foram cobertas com verde malaquite a 0,4% durante 30 segundos e novamente lavadas em água corrente. Depois de secagem ao ar, os esfregaços foram observados numa ampliação de 1000x, com recurso a objetiva de 100x e óleo de imersão, para pesquisa de quistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* spp.. Em cada lâmina foram observados um mínimo de 30 campos.

Figura 16 - Esfregaços fecais: A) secagem do esfregaço ao ar; B) aspeto de coloração de esfregaços com fucsina (fotografias originais).



2.5.5. Imunofluorescência Direta (*kit* Crypto/Giardia Cell IF)

As amostras consideradas duvidosas para *Giardia* spp. ou *Cryptosporidium* spp. nos exames coprológicos anteriores foram ainda sujeitas a imunofluorescência direta, com recurso a *kit* Crypto/Giardia Cell IF dos laboratórios Cellabs® (Figura 17), para confirmação do resultado. O protocolo seguido encontra-se descrito no Anexo 2.

Figura 17 – Conjunto de imunofluorescência Crypto/Giardia Cell IF: A) preparação do material necessário; B) amostras colocadas nos poços (fotografias originais).



2.6. Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados obtidos foi utilizado o *software* gratuito Quantitative Parasitology 3.0, desenvolvido por Rózsa, Reiczigel & Majoros (2000), e disponível online em <http://www.zoologia.hu/qp/qp.html>.

3. Resultados

3.1. Caracterização das amostras

Foram recolhidas no total 118 amostras nos 13 locais de recolha. A distribuição do número de amostras pelos locais encontra-se na Tabela 3. Todas estas amostras foram sujeitas aos diferentes procedimentos de diagnóstico parasitológico mencionados anteriormente. Os resultados obtidos encontram-se esquematizados na Tabela 5 (Anexo 3).

Tabela 3 - Distribuição do número de amostras pelos diferentes locais de recolha.

| Local de recolha | Número de amostras | Local de recolha | Número de amostras |
|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| A | 6 | H | 9 |
| B | 12 | I | 6 |
| C | 4 | J | 6 |
| D | 2 | L | 8 |
| E | 4 | M | 7 |
| F | 25 | N | 20 |
| G | 9 | Total (n) | 118 |

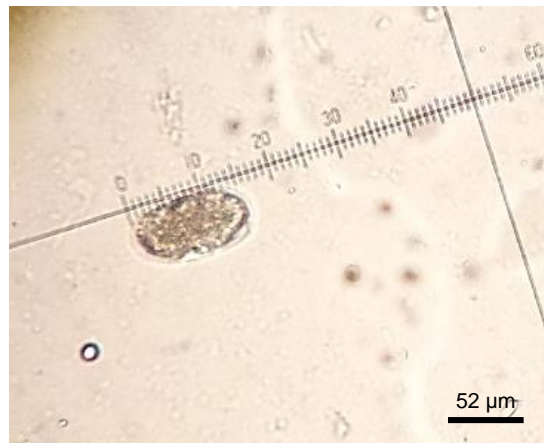
3.2. Observação Macroscópica

A observação macroscópica das fezes não permitiu a identificação de parasitas adultos em nenhuma das amostras consideradas (n=118). Outros parâmetros da observação direta, como a sua consistência foram registados na Tabela 5, presente no Anexo 3.

3.3. Parasitas observados pela técnica de Willis

Após a flutuação com solução saturada de sacarose, uma amostra revelou presença de formas parasitárias, a saber, 8 ovos de tipo ancilostomatídeo, embrionados (Figura 18), que foram posteriormente medidos, para que se aferisse a espécie a que pertenciam. O comprimento dos ovos variou entre 70 a 80 μm (média: 77 μm) e a largura entre 42,5 e 50 μm (média: 47 μm). Após a medição dos ovos, e segundo as tabelas de Thienpont, Rochette & Vanparijs (1979), concluiu-se tratarem-se de ovos de *Uncinaria stenocephala*. Para esta medição, recorreu-se ao microscópio ótico Olympus DP10, modelo BX50F, com ocular métrica.

Figura 18 - Ovo de tipo ancilostomatídeo em processo de medição (fotografia original).



As restantes amostras foram consideradas negativas.

3.4. Parasitas observados pela técnica de Baermann

Não foram observadas larvas de parasitas pulmonares em nenhuma das 118 amostras. Apenas foram observados nemátodes de vida livre em 7 das amostras.

3.5. Parasitas observados em esfregaços fecais

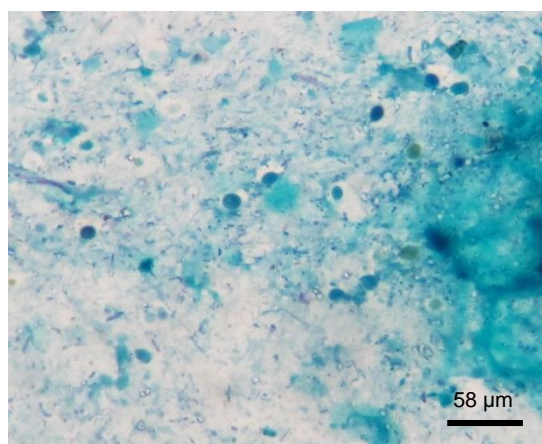
3.5.1. Esfregaços fecais corados com Giemsa

A observação da totalidade dos 118 esfregaços fecais revelou-se negativa.

3.5.2. Esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada

Na observação dos 118 esfregaços, foram identificados quistos de *Giardia* em 10 amostras (Figura 19).

Figura 19 – Presença de quistos de *Giardia* em esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada (fotografia original).



A observação de outras 5 lâminas ofereceu algumas dúvidas à identificação de eventuais quistos de *Giardia*. No que se refere a *Cryptosporidium* spp., nenhuma das 118 lâminas permitiu a identificação clara de oocistos do parasita, embora houvesse formas duvidosas em 3 das lâminas. Finalmente, outras 2 lâminas mostravam formas semelhantes quer a quistos de *Giardia*, quer a oocistos de *Cryptosporidium* spp.. Todas as amostras consideradas duvidosas para qualquer um dos parasitas ou para ambos (10, no total) foram posteriormente sujeitas a IF para confirmação do diagnóstico.

3.6. Técnica de Imunofluorescência Direta

A técnica de IF foi usada em 10 das amostras referidas no ponto 3.5.2., cujos resultados foram considerados duvidosos aquando da observação dos esfregaços fecais. Todas essas amostras foram consideradas negativas após a realização do protocolo IF.

3.7. Resumo dos resultados gerais

Na Tabela 4 encontram-se os resultados gerais das espécies de parasitas encontrados neste rastreio, indicando-se ainda a respetiva prevalência e limites de prevalência para a população a um intervalo de confiança de 95% [IC 95%].

Tabela 4 - Síntese dos resultados gerais obtidos (n=118).

| Parasita | Frequência absoluta | Prevalência | IC 95% |
|------------------------|----------------------------|--------------------|---------------|
| <i>Giardia</i> | 10 | 8,5% | 4,5 – 15% |
| <i>U. stenocephala</i> | 1 | 0,8% | 0 – 4,6% |

Quando relacionada com a consistência das fezes, o valor de prevalência de *Giardia* é de 14,3% em fezes pastosas (1 positiva em 7 amostras) e de 25% quando se consideram as fezes diarreicas (1 positiva em 4 amostras).

4. Discussão

A colheita de 118 amostras de fezes em parques e jardins públicos pretendeu representar o grau de parasitismo dos cães da cidade, e também o risco de contaminação parasitária destes espaços na cidade de Beja, bem como a sua relevância em termos de Saúde Pública. Os locais de recolha, maioritariamente em áreas residenciais, serão provavelmente mais frequentados por pessoas que passeiam os seus cães domésticos, mais do que por cães errantes, que muitas vezes acabam por vaguear em zonas mais periféricas. Espera-se portanto que a amostra recolhida represente essencialmente animais com proprietário.

O parasita mais encontrado nas amostras foi o protozoário *Giardia*, em 10 das 118 amostras (8,5%), seguido por *Uncinaria stenocephala* com 1 amostra positiva (0,8%). É ainda de referir que a amostra que continha *U. stenocephala* era uma das 10 com presença de *Giardia*, representando portanto uma coinfeção nesse animal. De entre as amostras recolhidas, 108 não permitiram a deteção de qualquer parasita pelos métodos utilizados (91,5%).

No presente estudo, não foram detetadas quaisquer formas de céstodes em nenhuma das amostras. Outros estudos em Portugal, como o de Maurício, Rosa e Crespo (2006), na Azambuja, o de Crespo *et al.* (2013) em Santarém, ou o de Gravata, Rosa e Crespo (2007) em Setúbal, mostram também prevalências relativamente baixas de cestodes em relação a outros parasitas gastrointestinais. Nestes estudos, as prevalências encontradas foram, respetivamente, 0,2%, 0,3% e 0,15% para ovos de Taeniidae. No estudo realizado em Santarém (Crespo *et al.*, 2013), adicionalmente, foi reportada uma prevalência de 0,3% para *D. caninum*. No entanto, é importante referir que estes estudos se realizaram ao longo de várias estações do ano, considerando portanto, condições edafoclimáticas mais variadas e que podem ser mais propensas ao desenvolvimento dos parasitas. No estudo que serve de base a esta dissertação, as amostras foram todas recolhidas no mesmo mês, o que reduz a variedade num dos fatores biológicos essencial ao desenvolvimento dos parasitas. Noutros estudos portugueses, ovos de *Taenia* spp. foram encontrados em 11,25% dos 80 cães errantes estudados em Vila Franca de Xira (Santos, 2014) e *D. caninum* em 0,8% das 124 amostras de canis de recolha da região de Lisboa (Lebre, 2011).

Ainda relativamente aos céstodes, e em concreto, o caso da equinococose alveolar, esta doença tem emergido por toda a Europa Central e de Leste, em proporção com o crescimento das populações de raposas e invasão dos grandes centros urbanos por estes carnívoros silvestres (Deplazes *et al.*, 2011). Visto que os cães apenas raramente são infetados por *Echinococcus multilocularis*, não era esperado que o parasita estivesse presente nas amostras recolhidas, ou pelo menos, que não estivesse presente de forma representativa. Uma vez que as amostras são recolhidas em zonas centrais da cidade, a infeção por *Echinococcus granulosus* não será também particularmente frequente, visto que os cães não

deverão contatar frequentemente com as vísceras contaminadas dos hospedeiros intermediários. Assim sendo, a ocorrência, a presença de ovos de Taeniidae representaria, muito provavelmente, infecções por *Taenia* spp., sem significado zoonótico. No entanto, se tal tivesse ocorrido, seria de toda a conveniência a realização de estudos moleculares para que os ovos fossem corretamente identificados.

No que toca aos casos de hidatidose humana, o Alentejo sempre foi a região do país com mais casos descritos, principalmente nos distritos de Évora e Beja. Em dados recentes, o distrito de Beja mantém-se com a segunda incidência mais elevada do país, com 1,1 casos reportados/100 000 habitantes/ano, no quinquénio de 2003 a 2007, sendo atualmente considerado como um distrito hipo-endémico (Morais, 2010).

Num estudo europeu, na Catalunha (Ortuño, Scorza, Castellà & Lappin, 2014), com base na análise por flutuação fecal de 81 amostras de cães de abrigo e 88 cães de caça, surgiram ovos de Taeniidae apenas no segundo grupo, com uma prevalência de 2,2%. Este é um dado que suporta o que Deplazes et al. (2011) já tinham descrito: as prevalências de ovos de Taeniidae tendem a ser superiores em animais com forte instinto predatório e com possibilidades de se movimentarem livremente.

A presença de nemátodes no presente estudo foi relativamente baixa, com apenas uma amostra positiva a *Uncinaria stenocephala*. Embora os valores de prevalências sejam inferiores a outros estudos semelhantes realizados em Portugal, este é um resultado positivo, que revela que o grau de parasitismo nos animais que frequentam os parques é baixo, quer porque estes estejam corretamente desparasitados, quer porque nunca tenham tido contacto com os parasitas em questão. Representa ainda um baixo risco de transmissão zoonótica para os cidadãos que compartilham os parques e jardins públicos visados no estudo. Para Bugg et al. (1999), a principal razão para a atual diminuição das parasitoses helmínticas como *Toxocara canis* ou *Dipylidium caninum* será uma consciencialização cada vez mais generalizada dos donos de cães sobre estes parasitas e as formas de os controlar.

Sendo reportado como o parasita zoonótico mais frequentemente transmitido por animais de companhia nos Estados Unidos da América (Schantz, 1994 citado em Robertson e Thompson, 2002), a presença de ovos de *Toxocara* spp. nas amostras recolhidas em parques públicos seria um motivo de preocupação para os frequentadores dos parques analisados, especialmente as crianças. A ausência de ovos de *Toxocara* spp. no presente estudo não era esperada, até porque nos restantes estudos semelhantes realizados a nível nacional, surgiram prevalências de cerca de 1,08% em 648 amostras recolhidas em Setúbal (Gravata et al., 2007) e 1,4% em 432 amostras provenientes da Azambuja (Maurício et al., 2006). Em Lisboa, no estudo de Otero et al. (2013), com pesquisa de formas parasitárias em amostras de solo e de fezes de 15 espaços públicos, a prevalência de ovos *Toxocara* spp. encontrada

foi de 75,7% nas amostras de solo e de 7,5% nas amostras de fezes. No estudo de Neves *et al.* (2014), no Porto, verificou-se que *Toxocara canis* estava presente em 5,1% dos 175 cães que se apresentaram assintomáticos e em 7,8% dos 193 animais com sinais clínicos que se apresentaram no hospital veterinário. Em Lisboa, Lebre (2011) descreveu uma prevalência de ovos de *T. canis* pela técnica de flutuação com sulfato de zinco de 1,6% em 124 cães de canis de recolha. Noutro estudo, em Vila Franca de Xira, este nemátode estava presente em 15% dos 80 cães errantes estudados (Santos, 2014).

Embora por um lado seja comum haver algum grau de contaminação do ambiente com ovos de ascarídeos, por outro lado, os animais jovens, com algumas semanas de idade, são os mais propensos a infeções por *Toxocara* spp. (Robertson *et al.*, 2000), e geralmente estes animais ainda não passeiam na rua nem são levados a locais públicos, por não terem o plano vacinal completo. Por este motivo, é previsível que *Toxocara* spp. não seja dos parasitas mais encontrados em jardins e parques de lazer, como se verificou em Beja. No entanto, o facto de no presente estudo não terem sido encontrados quaisquer ovos de *Toxocara* spp. não exclui uma possível contaminação do ambiente. Há também que ter em conta que alguns dos animais adultos infetados podem encontrar-se em período de latência, pelo que a ausência de ovos nas fezes não exclui a infeção. Na verdade, um resultado de 0 ovos em 118 amostras confere uma estimativa de prevalência na população variável entre 0 e 3% a um intervalo de confiança de 95%. Ainda assim, o Alentejo não parece apresentar elevadas prevalências de *Toxocara* spp.: outro estudo numa região próxima, em Évora, com animais de casa e de canil revelou presença de *Toxocara* spp. apenas nos 77 cães de casa, com uma prevalência de 1,3% (Ferreira *et al.*, 2011). Não é, no entanto, referida a idade dos animais infetados, que seria importante para tirar conclusões acerca do parasitismo geral.

Schantz, Moorhead, Dickerson e Roberts (1994) citados em Robertson *et al.* (2000) afirmaram que, embora cerca de 80% dos cães com menos de 6 semanas estivessem parasitados por *Toxocara* spp., apenas 20% foram dados como positivos tendo em conta a presença de ovos nas suas fezes. De facto, num estudo na Holanda, 12,2% dos cães apresentavam ovos de *Toxocara* spp. na pelagem, ao passo que apenas 4,4% das amostras fecais mostravam presença desses mesmos ovos (Overgrauuw *et al.*, 2009). A presença de falsos negativos é sempre de considerar, principalmente quando se usam técnicas pouco sensíveis (Robertson *et al.*, 2000). Embora os testes de flutuação fecal sejam largamente utilizados por todo o mundo, por serem sensíveis, práticos e pouco dispendiosos, também é verdade que a precisão varia consoante a técnica utilizada e a experiência do operador (Robertson *et al.*, 2000).

Toxocara spp. é um dos agentes parasitários zoonóticos mais preocupantes, uma vez que as fêmeas têm uma fecundidade muito alta, e milhares de ovos são eliminados nas fezes dos

animais infetados, e libertados no meio ambiente. Para além deste facto, é também verdade que os ovos têm uma grande capacidade de sobrevivência no ambiente externo, onde se tornam infetantes, e portanto, este é um dos principais parasitas contaminantes do ambiente. Em Córdova (Espanha), num estudo de Martínez-Moreno *et al.* (2007) com recolha de amostras de solo em parques e jardins públicos, foram encontrados ovos de *Toxocara* spp. em 13 de 22 parques da cidade. Também em Praga, a análise de amostras de solo por flutuação mostrou presença de ovos de *Toxocara* spp. em 20,4% das amostras de parques públicos e em 11,9% das amostras de caixas de areia (Dubná *et al.*, 2007). Dados do Brasil (Filho *et al.*, 2008) indicam prevalência de 4,2% de ovos de *T. canis* em amostras de fezes recolhidas de praças públicas.

Felizmente, a prevalência de *T. canis* tem vindo a diminuir nas últimas décadas, devido, muito provavelmente, ao uso de anti-helmínticos de forma rotineira pela maior parte dos médicos veterinários (Robertson & Thompson, 2002).

Como já foi referido, uma amostra revelou presença de ovos de tipo ancilostomatídeo após flutuação fecal. Tratavam-se de ovos de *Uncinaria stenocephala*, um ancilostomatídeo, de patogenicidade inferior a *Ancylostoma caninum*; ainda assim, um agente zoonótico possivelmente causador de LMC. No caso, tratava-se de uma coinfeção com *Giardia* spp., numa amostra de fezes pastosas. Os ancilostomatídeos são os nemátodes com as prevalências mais altas em todos os estudos realizados em Portugal, com valores relativamente superiores aos registados no presente estudo, em Beja. No estudo de Gravata *et al.* (2007), em Setúbal, foram detetados ovos de ancilostomatídeos em 6,02% das amostras recolhidas. No estudo realizado na Azambuja (Maurício *et al.*, 2006) e em Santarém (Crespo *et al.*, 2013), as prevalências situam-se nos 4,9% e 8,8%, respetivamente. No estudo efetuado em Évora, em cães domésticos e de canis, foram detetados ovos de *Ancylostoma* sp. em 7,8% dos 77 cães domésticos e em 4,1% dos 49 cães de canil (Ferreira *et al.*, 2011). Em Vila Franca de Xira, Santos (2014) encontrou uma prevalência de 15% para *Ancylostoma caninum* e de 16,25% para *U. stenocephala*, numa amostra de 80 cães errantes. Lebre (2011) descreveu uma prevalência de 9,7% de ovos de ancilostomatídeos em 124 animais de canis de recolha da região de Lisboa, pelo método de flutuação com sulfato de zinco.

Nos Estados Unidos da América, os resultados são ligeiramente diferentes, com ancilostomatídeos a surgirem com prevalências semelhantes a *Toxocara* spp. (2,2% e 2,5%, respetivamente), num estudo de flutuação com sulfato de zinco (Little *et al.*, 2009). Resultados de um estudo realizado no município de Ituna, Bahia, Brasil, mostram prevalências de 47,9% para ovos de Ancylostomatidae (Filho *et al.*, 2008). Conforme previamente referido, os ancilostomatídeos representam um risco mais elevado nos países tropicais; acrescem como fatores de risco para a transmissão zoonótica, o facto de ser um país em desenvolvimento,

onde a educação da população é uma necessidade, e algumas pessoas caminham descalças em zonas públicas. É importante frisar que, sendo estes países destinos turísticos de eleição, também os turistas que os visitam acabam por estar em risco para infeções por ancilostomatídeos.

A presença de ovos de Ancylostomatidae no presente estudo surge como um fator de risco para a população, visto que se trata de um agente zoonótico e que pode infetar o homem pelo simples contato direto cutâneo. Embora a patogenicidade de *U. stenocephala* seja relativamente baixa, quer para os animais infetados, quer para o ser humano, não se pode desvalorizar o facto de ser um parasita hematófago e agente de LMC.

Todas as 118 amostras sujeitas à técnica de Baermann, considerada a técnica de eleição para diagnóstico de angiostrongilose pulmonar (Alho *et al.*, 2013; Bowman, 2009; Koch & Willesen, 2007), foram consideradas negativas.

Não há muitos estudos no nosso país realizados em cães que atestem prevalências de *A. vasorum* e que possam determinar um termo de comparação com o presente estudo. Nabais (2012) refere uma prevalência de 2% do parasita, numa amostragem de 50 cães, na área da Grande Lisboa. Um estudo em Itália com recurso à técnica de Baermann revelou uma prevalência de 0,6% de *A. vasorum* em 347 cães (Guardone, Schnyder, Macchioni, Deplazes & Magi, 2013).

Embora seja considerada a técnica de eleição para diagnóstico de nemátodes pulmonares, a técnica de Baermann pode apresentar falsos negativos por diversos motivos. De entre eles, salientam-se o uso de matéria fecal insuficiente, a análise de fezes de apenas um dia (é recomendado que a amostra seja recolhida ao longo de três dias), inexperiência do observador, movimentos da lâmina durante o exame de microscopia, que podem dificultar a identificação das larvas L1 e ainda ausência de excreção, quer porque o animal se encontra no período pré-patente, quer porque está num período de excreção intermitente (Alho *et al.*, 2013).

Poderiam obter-se resultados mais fiáveis no diagnóstico desta parasitose se estes fatores fossem corrigidos; no entanto, no presente estudo não era uma possibilidade, visto que as amostras foram recolhidas aleatoriamente e num momento único.

Embora nenhuma destas espécies tenha sido identificada no presente estudo, é importante conferir os resultados de outros estudos semelhantes relativamente a prevalências de *Toxascaris leonina*, *Trichuris vulpis* e *Strongyloides stercoralis*.

No que concerne a *T. leonina*, as prevalências nacionais registadas são também baixas nos diversos estudos efetuados. Em Évora registou-se uma prevalência de 1,3% nos 77 cães

domésticos e de 0% nos 49 cães do canil de abrigo, ficando a prevalência geral nos 0,8% em 126 animais (Ferreira *et al.*, 2011). Em Setúbal, Gravata *et al.* (2007) referem prevalência de 0,62% nas 648 amostras recolhidas em locais públicos. No estudo de Lebre (2011), em canis de recolha da região de Lisboa, registou-se uma prevalência de 1,6% para este nemátode, nas 124 amostras estudadas por flutuação em sulfato de zinco. Em Espanha, registou-se uma prevalência de 13,6% em Córdoba, obtida por flutuação fecal de 1500 amostras (Martínez-Moreno *et al.*, 2007) e na Catalunha, uma prevalência geral de 2,3% em 169 cães.

Strongyloides stercoralis, embora tenha potencial zoonótico, é das helmintoses referidas a menos pesquisada nos estudos nacionais. Em Setúbal (Gravata *et al.*, 2007) registou 0,15% de prevalência do parasita nas 648 amostras recolhidas em locais públicos. Santos (2014) referiu uma prevalência de 7,5% em 80 amostras recolhidas de cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira. No Brasil, no estudo realizado por Filho *et al.* (2008), registou-se uma prevalência na ordem dos 6,7% em 119 amostras.

Em relação a *Trichuris vulpis*, os resultados nacionais disponíveis variam entre 0,7% nas 126 amostras analisadas no estudo de Ferreira *et al.* (2011) em Évora, e 11,25% em 80 amostras de fezes de cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira (Santos, 2014), com prevalências intermédias registadas em Peniche (Crespo *et al.*, 2006), no Porto (Neves *et al.*, 2014), em Santarém (Crespo *et al.* 2013), em Lisboa (Lebre, 2011) e em Setúbal (Gravata *et al.*, 2007). Os resultados nacionais não são muito diferentes de outros registados noutras partes do mundo, como em Córdoba, com 1,5% de animais infetados em 1500 amostrados (Martínez-Moreno *et al.*, 2007), no Brasil, com 4,2% (Filho *et al.*, 2008) e nos Estados Unidos da América, com 1,2% (Little *et al.*, 2009).

Ao contrário dos helmintes gastrointestinais, a presença de protozoários foi marcante nas amostras recolhidas neste estudo. De facto, a prevalência dos parasitas gastrointestinais reconhecidos como “tradicionais” (céstodes e nematodes) tem vindo a decrescer em áreas urbanas, o que traz como consequência o aumento relativo de parasitismo por *Giardia* e *Cryptosporidium* (Bugg *et al.*, 1999). Estes dados são particularmente preocupantes para os grupos de maior risco, como as crianças, os idosos e os imunocomprometidos (Irwin, 2002), em que este tipo de parasitas tende a causar doença clínica com gravidade variável.

O aumento de prevalência de *Giardia* que se tem verificado nas últimas décadas advém, não só da melhoria dos métodos de diagnóstico, mas também da resistência à maioria dos desparasitantes utilizados atualmente em clínica, o que faz com que os protozoários colonizem o intestino, aproveitando o nicho libertado pela eliminação de importantes helmintes como *T. canis* ou *D. caninum* (Bugg *et al.*, 1999; Robertson *et al.*, 2000; Robertson & Thompson, 2002). Em Córdoba, o estudo de Martínez-Moreno *et al.* (2007) demonstrou que embora a prevalência geral de cestodes e nemátodes fosse mais baixa para cães de ambiente

urbano em relação aos de ambiente rural, não havia alterações significativas nos níveis de parasitismo por protozoários. Corroborando também esta teoria o estudo de Filho *et al.* (2008), que mostra que no Brasil, onde as infeções por nemátodes ainda são a principal preocupação em termos de saúde pública, o protozoário *Giardia* surge com prevalências mais baixas, na ordem dos 0,8%. De facto, Buggs *et al.* (1999) demonstraram uma correlação positiva entre o uso de anti-helmínticos e a prevalência de *Giardia*.

Esta tendência verificou-se também no presente estudo, em Beja, visto que associado à baixa prevalência de helmintes, surge uma prevalência de 8,5% de quistos de *Giardia* nas amostras recolhidas. Também no estudo geograficamente mais próximo, em Évora (Ferreira *et al.*, 2011), em 77 cães domésticos e 49 cães de canis de abrigo, encontraram-se prevalências de 47% de *Giardia* em cães de canil, altamente contrastante com os resultados dos cães domésticos, com prevalência de 0%. Se se considerar a totalidade dos cães, a prevalência média é de 18%, ainda assim bastante superior à prevalência encontrada em Beja, o que é facilmente explicado pelas condições de albergue dos animais: o flagelado *Giardia* tende a desenvolver-se e a disseminar-se mais facilmente em condições de sobredensidade populacional associada a outros fatores de *stress*. Os canis e gatis de abrigo, bem como outros espaços de concentração de animais são, por esse motivo, os locais onde as prevalências mais altas são esperadas. Fernandes (2012) fez um estudo em dois canis de criação em Viseu, no qual apenas encontrou *Giardia* spp. num dos canis, com uma prevalência de 21,6% em 51 amostras estudadas. Num estudo realizado no Colorado, Estados Unidos da América, comprovou-se uma prevalência de *Giardia* de 8% num grupo de 66 cães frequentadores de parques para cães, comparativamente a 0% de prevalência no grupo de 63 cães que não frequentavam esses mesmos parques (Wang, Ruch-Gallie, Scorza, Lin & Lappin, 2012). O mesmo se ressalva do estudo de Ortuño *et al.* (2014), na Catalunha, onde as prevalências de *Giardia* spp. foram comparadas entre cães de caça e cães de canis de abrigo. Embora no primeiro grupo a prevalência já tenha sido relativamente alta (15,5% em 88 cães), nos animais provenientes de canil a prevalência escalou até aos 63% em 81 animais. No entanto, deve ter-se em conta que neste estudo na Catalunha, o método de diagnóstico utilizado foi a flutuação em sulfato de zinco, um método reconhecidamente mais sensível para detecção de quistos de *Giardia* do que a observação de esfregaços corados com Ziehl-Neelsen (Zajac & Conboy, 2012), como aconteceu no estudo em Beja. Outros estudos nacionais revelam prevalências de 55,9% em 34 amostras de canis de recolha, estudadas por imunofluorescência direta (Lebre, 2011) e de 32,5% em 80 amostras de cães errantes pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada (Santos, 2014).

É ainda interessante comparar a presença de *Giardia* com a consistência das fezes recolhidas. No presente estudo, em Beja, a prevalência geral de *Giardia* foi de 8,5%. Este valor aumentou para 14,3% (1 positiva em 7 amostras) se se tiver em conta apenas as

amostras de fezes com consistência pastosa e para 25% (1 positiva em 4 amostras) quando se consideram as fezes diarreicas. A mesma tendência é patente no estudo de Neves *et al.* (2014), em cães domésticos na cidade do Porto, onde se verificou uma prevalência de 7,4% para *Giardia* em animais aparentemente saudáveis, agravando-se esta prevalência para 15,5% quando analisado o grupo dos animais com sinais gastrointestinais. Também num estudo europeu com recurso ao teste rápido IDEXX SNAP *Giardia* Test® as prevalências foram distintas de acordo com os sintomas apresentados pelos cães, sendo que 15,93% dos cães assintomáticos se mostraram positivos a *Giardia*, prevalência essa que aumenta para 26,99% em cães com diarreia aguda e 28,04% nos cães com diarreia crónica (Epe, Rehker, Schnieder, Lorentzen & Kreienbrock, 2010).

A relação inversa não é fácil de estabelecer, visto que, no presente estudo, apenas 2 das 10 amostras positivas a *Giardia* apresentavam alterações de consistência: uma amostra pastosa e outra diarreica. Este dado demonstra perfeitamente o que foi referido anteriormente relativamente à apresentação clínica de infeções por *Giardia* em cães: este protozoário geralmente não causa quaisquer sinais clínicos em animais saudáveis e imunocompetentes, e que pode facilmente passar despercebida aos proprietários do animal. É ainda de sublinhar que a amostra de consistência pastosa apresentava coinfeção com *U. stenocephala*, pelo que a causa da alteração da consistência das fezes provavelmente não seria o protozoário.

Esta é uma das zoonoses parasitárias mais frequentes e tem a sua importância definida e reconhecida em todo o mundo. *Giardia* é o parasita entérico mais comum dos cães de companhia em Perth, Austrália (Bugg *et al.*, 1999), e apresenta prevalência de 4% num estudo nos Estados Unidos da América, com recurso a flutuações com sulfato de zinco em 1 199 293 amostras (Little *et al.*, 2009). O estudo de Overgrauw *et al.* (2009) revela uma prevalência de 15,2% de *Giardia* em 161 cães domésticos na Holanda. Os genótipos A, B, C e D são comumente isolados de fezes de cães assintomáticos, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (Traub, 2008). Na verdade, a melhoria dos testes de diagnóstico tem vindo a demonstrar que mesmo em cães e gatos aparentemente saudáveis, as prevalências de *Giardia* podem ir de 10 a 40% (Bowman & Lucio-Forster, 2010), o que dificulta a sua deteção e consequente terapêutica e aumenta o risco de surtos e transmissão zoonótica, trazendo novos desafios para os médicos veterinários, associados ao diagnóstico e evolução do caso (Irwin, 2002). Num estudo realizado em escolas pré-primárias em Lisboa por Ferreira *et al.* (2013), 2,5% das 316 crianças participantes no estudo tinham presença de quistos de *Giardia* na fezes, pertencentes aos *assemblages* A e B. Embora estes *assemblages* possam ser transmitidos entre seres humanos, que é de facto a hipótese mais provável, tendo em conta que se trata de um estudo em escolas pré-primárias, não se pode excluir a transmissão zoonótica a partir de cães ou gatos. Seria interessante, nesse estudo, averiguar se alguma ou

algumas das crianças afetadas tinham animais domésticos infetados em casa ou se contactavam com solos eventualmente conspurcados por quistos do parasita.

A identificação por biologia molecular dos *assemblages* presentes nas amostras positivas de *Giardia* permitiria tirar conclusões interessantes relativamente à saúde pública, principalmente das pessoas que frequentam os parques e contactam com as fezes destes animais. O método descrito por Ferreira *et al.* (2013) seria indicado nesta vertente; no entanto, não foi possível a sua aplicação no presente estudo por restrições financeiras. No estudo em Évora, (Ferreira *et al.*, 2011) foi encontrada apenas uma amostra com potencial zoonótico (especificamente, de *assemblage* B) de entre as 28 positivas a *Giardia* (3,5%). As restantes amostras pertenciam aos *assemblages* C e D, associados apenas aos cães e sem carácter zoonótico descrito. Resultados mais preocupantes foram publicados por Overgrauw *et al.* (2009), que revelam que na Holanda duas amostras eram de *assemblage* A (zoonótico) de entre 13 sujeitas a biologia molecular (15%). Num estudo realizado na Sardenha, Itália, das 42 amostras que foram analisadas geneticamente, 2 pertenciam ao *assemblage* A (4,7%), 17 ao *assemblage* C e 23 ao *assemblage* D (Pipia *et al.*, 2014). O estudo na Catalunha (Ortuño *et al.*, 2014) não revelou a presença de *assemblage* zoonótico, nas 6 amostras que foram analisadas geneticamente.

No estudo de Pipia *et al.* (2014), em cães que visitavam clínicas veterinárias na Sardenha, obtiveram-se resultados de prevalência total na ordem dos 26,3%. Um dado interessante deste estudo é que revela uma prevalência de coinfeção com Ancylostomatidae na ordem dos 18% dos indivíduos positivos a *Giardia*. No presente estudo, em Beja, uma das amostras positivas para *Giardia* apresentava também coinfeção com *U. stenocephala*, o que pode reforçar a tendência encontrada no estudo de Pipia *et al.* (2014).

É ainda importante referir que a excreção de quistos de *Giardia* por animais infetados é intermitente, e por isso, aquando do diagnóstico parasitológico em ambiente de clínica, é sempre recomendada a recolha de fezes de vários dias consecutivos para que o diagnóstico seja mais preciso, e a probabilidade de encontrar falsos negativos seja mais reduzida. Tendo este estudo sido realizado com recolhas aleatórias de animais desconhecidos, não se exclui que possam existir alguns resultados falsos negativos, não só devido à sensibilidade da técnica utilizada, mas também devido à possibilidade de existência de animais infetados que estivessem num período de ausência de excreção de quistos.

No presente estudo, não foi encontrada nenhuma amostra na qual se reconhecessem oocistos de *Cryptosporidium* spp. Sendo, tal como *Giardia*, um protozoário oportunista, cuja prevalência tem tendência a aumentar na ausência de helmintes (Bugg *et al.*, 1999), e sendo ainda menos sensível aos desparasitantes comuns do que *Giardia*, seria de esperar que houvesse também infeção por oocistos de *Cryptosporidium* spp. no presente estudo.

No entanto, em estudos realizados no resto da Europa e também no continente Americano, verifica-se que *Cryptosporidium* spp. não acompanha a presença de *Giardia*, apresentando sempre valores menores de prevalência. No estudo do Colorado (Wang *et al.*, 2012), em cães que frequentam parques para cães e cães que não os frequentam, foram encontradas quistos de *Giardia* em 5 e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 3 dos 60 cães que frequentavam parques (prevalências de 8% e 5%, respectivamente). Nos 63 cães que não frequentavam parques não foram detetadas nenhuma das formas dos parasitas referidos. Na Holanda, o estudo de Overgrauw *et al.* (2009) em cães domésticos apresentou prevalências de 14,2% de *Giardia* e 8,7% de *Cryptosporidium* spp.. Em Vila Franca de Xira, Santos (2014) refere uma prevalência de *Cryptosporidium* spp. de 11,25% em 80 amostras de cães errantes, em contraste com os 32,5% observados de *Giardia* spp.. Embora ambos os valores sejam muito elevados comparados com o presente estudo, a diferença é justificável pela origem das amostras.

Os fatores que justificam estas menores prevalências prendem-se precisamente com a biologia do agente. No que toca a *Cryptosporidium*, poucos animais excretam oocistos nas fezes, embora os níveis de seroprevalência façam crer que em muitos casos pode já ter havido exposição anterior (Robertson *et al.*, 2000). Também a deteção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. pelos métodos coprológicos tradicionais (neste caso, esfregaço fecal com coloração álcool-ácido-resistente) é relativamente mais complicada do que a identificação de quistos de *Giardia* pelo mesmo método: os oocistos têm reduzidas dimensões e mesmo com ampliação de 1000x e uso de objetiva e óleo de imersão, por vezes são identificados apenas pelos técnicos mais experientes (Irwin, 2002). Um estudo comparativo entre os testes rápidos de antígenos e a técnica de Ziehl-Neelsen para diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. revelou que os testes rápidos apresentam uma sensibilidade de 86,7% e especificidade de 100%, ao passo que a técnica de Ziehl-Neelsen compreende uma sensibilidade de apenas 73,3% e especificidade de 95%, para além de estar dependente da capacidade e experiência do técnico que observa o esfregaço ao microscópio (Zaglool, Mohamed, Khodari & Farooq, 2013).

Não obstante as dificuldades no diagnóstico, *Cryptosporidium* spp. deve ser sempre pesquisado em estudos como o presente, em que se pretende aferir sobre o parasitismo, contaminação ambiental e saúde pública, visto que os oocistos de parede espessa que são expelidos nas fezes dos animais infetados apresentam uma grande capacidade de resistência no meio ambiente, perpetuando a possibilidade de transmissão e disseminação.

Por ter uma maior expressão em cães com doenças concomitantes, como as enterites virais, o diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. deve ser considerado antes da instituição da terapêutica, uma vez que o uso de fármacos imunossupressores pode significar o exacerbar

da criptosporidiose, levando ao aumento da eliminação de oocistos, e portanto, uma maior contaminação ambiental (Irwin, 2002), o que representa sem dúvida, um risco para os animais e seres humanos que partilham o mesmo ambiente.

Neste estudo não foram também detetados oocistos de *Cystoisospora* spp. em nenhuma das 118 amostras. Sendo a principal coccídea dos cães e dos gatos e tendo os oocistos elevada resistência às condições ambientais, seria de esperar que houvesse uma prevalência no ambiente superior a 0%. Novamente, como para *Toxocara canis*, a principal justificação para a ausência do parasita nas 118 amostras analisadas será a idade dos seus hospedeiros, visto que este protozoário afeta maioritariamente animais jovens, que não devem passear na rua até que completem o seu plano vacinal.

Embora ausente neste estudo, *Cystoisospora* spp. surge noutros estudos realizados em Portugal. Em Évora, oocistos de *Cystoisospora* spp. surgiram em 5% dos 126 cães que entraram no estudo (Ferreira *et al.*, 2011). No estudo no Porto, *Cystoisospora canis* foi identificado em 8% dos 175 animais saudáveis e em 13,5% dos 193 animais com sintomatologia gastrointestinal (Neves *et al.*, 2014). No estudo de Lebre (2011), na região de Lisboa, oocistos de *Cystoisospora* spp. foram identificados em 15 das 124 amostras provenientes em canis de recolha. A prevalência na Catalunha é semelhante à descrita em Évora, com 4,8% dos animais infetados em 169 estudados (Ortuño *et al.*, 2014). Nos Estados Unidos da América, o estudo de Little *et al.* (2009) revelou uma prevalência de *Cystoisospora* de 4,4% através do método de flutuação com sulfato de zinco em 1 199 293 amostras.

De um modo geral, pode constatar-se que a desparasitação anti-helmíntica nos animais da cidade de Beja se mostrou eficaz, devido às baixas prevalências de helmintes (apenas uma amostra positiva a helmintes em 118). Este resultado demonstra que a maioria dos cães que visitam parques e jardins públicos em Beja se encontram corretamente desparasitados ou não contactaram com os parasitas, representando um baixo risco de transmissão zoonótica para os transeuntes. No entanto, há que ter em conta que estes serão os animais de zonas residenciais, maioritariamente apartamentos, e que portanto representarão os animais que vivem dentro das próprias habitações dos seus donos. Logicamente, são estes também os animais cujas visitas ao veterinário são mais frequentes. Há que salientar que em zonas mais rurais do concelho, como quintas ou propriedades agrícolas, em que os cães estão muitas vezes à solta, num quintal ou numa zona da propriedade, a preocupação dos donos com a profilaxia pode tender a ser menor, podendo esperar-se resultados relativamente diferentes. Por fim, as populações de animais errantes, menos comuns no centro da cidade e nas zonas habitacionais, também mantém a pressão de infeção para muitos animais domésticos (Deplazes *et al.* 2011), e portanto não deve ser desvalorizada.

IV. Conclusão

Atingidos os objetivos deste estudo, verificou-se que a carga parasitária do ambiente na cidade de Beja revela um risco reduzido, com valores de contaminação relativamente baixos, o que oferece segurança à comunidade. Esta reduzida contaminação parasitária atribui-se essencialmente ao uso de desparasitantes de largo espectro usados de forma rotineira na clínica de animais de companhia, o que permite também que os animais contactem menos frequentemente com formas parasitárias, e reduzindo portanto o seu risco de infeção. Os protozoários lideram as prevalências encontradas neste estudo, com presença de 8,5% de quistos de *Giardia*. Surgem precisamente como um desafio aos médicos veterinários da cidade visto que, como já foi visto, estes protozoários representam muitas vezes infeções subclínicas e o seu diagnóstico nem sempre é fácil. Visto que não houve possibilidade de avaliar o genótipo dos quistos de *Giardia* encontrados, não se pode aferir sobre o risco de transmissão zoonótica destas amostras, restando salientar que representam sempre um risco acrescido para os cães que visitam estes espaços. No que toca à Saúde Pública, ressalva-se o facto de as infeções por protozoários representarem risco essencialmente para indivíduos imunocomprometidos, não sendo, na maior parte dos casos, clinicamente significativas em pessoas sãs. O resultado mais preponderante em termos Saúde Pública acaba por ser a presença do nemátode potencialmente zoonótico *Uncinaria stenocephala* em uma das 118 amostras, ainda que com uma prevalência bastante baixa (0,8%).

Relativamente ao presente estudo, uma vez que ainda não estão descritos métodos práticos para reduzir as cargas parasitárias no ambiente, prevenir é mesmo o melhor remédio, procurando-se evitar desde logo a contaminação inicial destes locais. As medidas essenciais passam pela eliminação das parasitoses nos cães e nos gatos, com tratamentos anti-helmínticos adequados, especialmente nas crias e nas fêmeas reprodutoras; não permitir a defecação dos animais em locais públicos, ou se tal acontecer recolher prontamente as fezes; e, claro, educação dos proprietários e da comunidade em geral. Resta ainda salientar que, embora a contaminação parasitária se tenha revelado baixa nos espaços públicos da cidade de Beja, a ausência da recolha das fezes dos animais apresenta outros efeitos adversos, desvalorizando esses mesmos espaços, que pertencem a toda a comunidade e que devem ser estimados.

No âmbito do conceito One Health, sabendo que o contacto com animais apresenta alguns riscos, é importante salientar que a frequência da maior parte das zoonoses pode ser diminuída, ou até mesmo erradicada com boas práticas, o que decerto trará uma convivência ainda mais harmoniosa e benéfica entre humanos e animais.

V. Perspetivas futuras

Estudos futuros nesta região deveriam incidir nas clínicas e hospitais veterinários da região, com recolha adequada de fezes de vários dias e acompanhamento dos animais, para se aferir o grau real de parasitismo dos animais domésticos e serem definidos os planos de desparasitação estratégica mais adequados.

Também seria interessante realizar estudos na mesma região em canis de recolha e em freguesias urbanas, comparando as prevalências encontradas em cada caso. No que se refere ao protozoário *Giardia*, seria importante também realizar a genotipagem dos parasitas encontrados, que traria informações relevantes acerca do potencial zoonótico.

Bibliografia

- Alho, A. M., Seixas, R., Rafael, T., & Madeira de Carvalho, L. (2010). Formas larvares dos helmintas: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. *Veterinary Medicine*, 12 (71), 45-58.
- Alho, A. M., Nabais, J., & Madeira de Carvalho, L. (2013). A importância da técnica de Baermann na clínica de pequenos animais. *Clínica Animal*, 1(3), 29-31.
- Amaral, H. L., Rassier, G. L., Pepe, M. S., Gallina, T., Villela, M. M., Nobre, M. O., Sacaini, C. J., & Berne, M. E. (2010). Presence of *Toxocara canis* eggs on the hair of dogs: A risk factor for Visceral Larva Migrans. *Veterinary Parasitology*, 174, 115-118.
- Ballweber, L. R. (2001). *The Practical Veterinarian - Veterinary Parasitology* (1st ed.). Woburn, Massachussets, USA: Butterworth-Heinemann.
- Beck, A. M., & Meyers, N. M. (1996). Health enhancement and companion animals. *Annual Reviews of Public Health*, 17, 247-257.
- Bowman, D. D. (2009). *Georgi's Parasitology for Veterinarians* (9th ed.). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Bowman, D. D., & Lucio-Forster, A. (2010). Cryptosporidiosis and giardiasis in dogs and cats: veterinary and public health importance. *Experimental Parasitology*, 124, 121-127.
- Bugg, R. J., Robertson, I. D., Elliot, A. D., & Thompson, R. C. (1999). Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. *The Veterinay Journal*, 157, 295-301.
- Crespo, M. V., Rosa, F., & Silva, A. E. (2006). Contaminação parasitária por fezes de canídeos no concelho de Peniche - Dados preliminares. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 13(1-2), 53-57.
- Crespo, M., Fradinho, A. R., & Rosa, F. (2013). Contaminação ambiental e parasitária por fezes de canídeos na cidade de Santarém. *Revista da Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém*, 2(1), 132-150.
- Deplazes, P., & Eckert, J. (2001). Veterinary aspects of alveolar echinococcosis - a zoonosis of public health significance. *Veterinary Parasitology*, 98, 65-87.
- Deplazes, P., Knapen, F. v., Schweiger, A., & Overgrauuw, P. A. (2011). Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary Parasitology*, 182, 41-53.
- Dhaliwal, B. B., & Juyal, P. D. (2013). *Parasitic Zoonoses* (1st ed.). Índia: Springer.
- Dubná, S., Langrová, I., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S., Nápravník, J., & Fechtner, J. (2007). Contamination of soil with *Toxocara* eggs in urban (Prague) and rural areas in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 144, 81-86.
- Dunn, J. J., Columbus, S. T., Aldeen, W. E., Davis, M., & Carroll, K. C. (2002). *Trichuris vulpis* recovered from a patient with chronic diarrhea and five dogs. *Journal of Clinical Microbiology*, 2703-2704.

- Epe, C., Rehker, G., Schnieder, T., Lorentzen, L., & Kreienbrock, L. (2010). *Giardia* in symptomatic dogs and cats in Europe - results of a European study. *Veterinary Parasitology*, 173, 32-38.
- European Scientific Counsel Companion Animals Parasites [ESCCAP]. (2010). ESCCAP Guideline 1: Worm control in dogs and cats. (2nd ed.). Acedido a 21 de junho 21, 2014, disponível em: http://www.esccap.org/uploads/docs/nkzqmxn_esccapgl1endoguidelines.pdf
- European Scientific Counsel Companion Animals Parasites [ESCCAP]. (2011). ESCCAP Guideline 6: Control of intestinal protozoa in dogs and cats. (1st ed.). Acedido a 21 de junho 21, 2014, disponível em: http://www.esccap.org/uploads/docs/09t40rlc_esccapgl6_lowres.pdf
- Fernandes, A. D. (2012). Parasitismo por *Giardia* spp. em canis de criação na região de Viseu, Portugal. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.
- Ferreira, F. S., Bandeira, R. A., Constantino, C. A., Fonseca, A. M., Gomes, J. d., Rodrigues, R. M., Atouguia, J. L., & Centeno-Lima, S. C. (2013). Molecular and clinical characterization of *Giardia duodenalis* infection in preschool children from Lisbon, Portugal. *Journal of Parasitology Research*. Acedido a 30 de maio 30 de 2014, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/252971>
- Ferreira, F. S., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Távira, L. T., Atouguia, J., & Centeno-Lima, S. (2011). Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*, 179, 242-245.
- Filho, P. C., Barros, L. M., Campos, J. O., Braga, V. B., Cazorla, I. M., Albuquerque, G. R., & Carvalho, S. M. (2008). Parasitas zoonóticos em fezes de cães em praças públicas do município de Itabuna, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17(4), 206-209.
- Gennari, S. M., Kasai, N., Pena, H. F., & Cortez, A. (1999). A ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 36(2), 87-91.
- Gravata, A. S., Rosa, F., & Crespo, M. V. (2007). Parasitas de canídeos no concelho de Setúbal (Portugal). Dados preliminares. *Congreso Iberico de Parasitología*. Madrid.
- Guardone, L., Schnyder, M., Macchioni, F., Deplazes, P., & Magi, M. (2013). Serological detection of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and specific antibodies in dogs from central and northern Italy. *Veterinary Parasitology*, 192, 192-198.
- Irwin, P. J. (2002). Companion animal parasitology: a clinical perspective. *International Journal for Parasitology*, 32, 581-593.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451, 990-993.
- Kachani, M., & Heath, D. (2014). Dog population management for the control of human echinococcosis. *Acta Tropica*, 139, 99-108.

- Katagiri, S., & Oliveira-Sequeira, T. C. (2007). Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. *Arquivos do Instituto Biológico*, 74(2), 175-184.
- Koch, J., & Willesen, J. L. (2007). Canine pulmonary angiostrongylosis: an update. *The Veterinary Journal*, 179, 348-359.
- Lebre, F. L. (2011). Rastreio de parasitas gastrintestinais e seu impacto zoonótico em cães de canil da cidade de Lisboa. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.
- Little, S. E., Johnson, E. M., Lewis, D., Jaktitsch, R. P., Payton, M. E., Blagburn, B. L., Bowman, D. D., Moroff, S., Tams, T., Rich, L., & Aucoin, D. (2009). Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Veterinary Parasitology*, 166, 144-152.
- Macpherson, C. N. (2005). Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *International Journal of Parasitology*, 35, 1319-1331.
- Martínez-Moreno, F. J., Hernández, S., López-Cobos, E., Becerra, C., Acosta, I., & Martínez-Moreno, A. (2007). Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary Parasitology*, 143, 7-13.
- Maurício, C., Rosa, F., & Crespo, M. V. (2006). Contaminação fecal por parasitas de canídeos na vila de Azambuja. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 13(1-2), 47-51.
- Molina, C. P., Ogburn, J., & Adegboyega, P. (2003). Infection by *Dipylidium caninum* in an infant. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 127, 157-159.
- Monis, P. T., Caccio, S. M., & Thompson, R. C. (2008). Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology*, 25(2), 93-100.
- Morais, J. A. (1998). *A hidatologia em Portugal*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Morais, J. A. (2010). Progressão e declínio da hidatidose humana em Portugal: análise histórico-epidemiológica. *Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 17(4), 274-285.
- Nabais, J. N. (2012). *Infecção por Aelurostrongylus abstrusus e Angiostrongylus vasorum (Nematoda: Angiostrongylidae) em gatos e cães no distrito de Lisboa, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.
- Nelson, R. W., & Couto, C. G. (2009). *Small Animal Internal Medicine*. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier.
- Neves, D., Lobo, L., Simões, P. B., & Cardoso, L. (2014). Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). *Veterinary Parasitology*, 200, 295-298.
- Nijssse, R., Mughini-Gras, L., Wagenaar, J. A. & Ploeger, H. W. (2014). Coprophagy in dogs interferes in the diagnosis of parasitic infections by fecal examination. *Veterinary*

- O'Haire, M. (2010). Companion animals and human health: Benefits, challenges, and the road ahead. *Journal of Veterinary Behavior*, 5, 226-234.
- Olson, M. E., Ceri, H., & Morck, D. W. (2000). *Giardia* vaccination. *Parasitology Today*, 16, 213-217.
- Ortuño, A., Scorza, V., Castellà, J., & Lappin, M. (2014). Prevalence of intestinal parasites in shelter and hunting dogs in Catalonia, Northeastern Spain. *The Veterinary Journal*, 199, 465-467.
- Otero, D., Nijse, R., Gomes, L., Alho, A. M., Overgrauw, P., Hoek, D. & Madeira de Carvalho, L. M. (2013). Soil contamination with *Toxocara* spp. eggs in public parks of Lisbon, Portugal - Preliminary results [Poster]. *XVIII Congresso de la Sociedad Española de Parasitología (SOCEPA), Gran Canaria*, 17-20 Setembro 2013, P-ZO.10, pp. 315.
- Overgrauw, P. A., Zutphen, L. v., Hoek, D., Yaya, F. O., Roelfsema, J., Pinelli, E., Knapen, F. & Kortbeek, L. M. (2009). Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 163, 115-122.
- Paul, M., King, L., & Carlin, E. P. (2010). Zoonoses of people and their pets: a US perspective on significant pet-associated parasitic diseases. *Trends in Parasitology*, 26(4), 153-154.
- Pipia, A. P., Varcasia, A., Tamponi, C., Sanna, G., Soda, M., Paoletti, B., Traversa, D., & Scala, A. (2014). Canine giardiasis in Sardinia Island, Italy: prevalence, molecular characterization and risk factors. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 8(5), 655-660.
- Robertson, I. D., & Thompson, R. C. (2002). Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes and Infection*, 4, 867-873.
- Robertson, I. D., Irwin, P. J., Lymbery, A. J., & Thompson, R. C. (2000). The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 30, 1369-1377.
- Roddie, G., Stafford, P., Holland, C., & Wolfe, A. (2008). Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Veterinary Parasitology*, 152, 85-93.
- Rosa, F., Nunes, C., Costa, F., Crespo, M. V., & Almeida, J. P. (2011). Contaminação ambiental por fezes de canídeos e eliminação parasitária na vila de Óbidos. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 18(1-2), 45-48.
- Rózsa, L., Reiczigel, J., & Majoros, G. (2000). Quantifying parasites in samples of hosts. *The Journal of Parasitology*, 86(2), 228-232.
- Sager, H., Steiner Moret, C., Grimm, F., Deplazes, P., Doherr, M. G., & Gottstein, B. (2006). Coprological study on intestinal heminths in Swiss dogs: temporal aspects of antihelminthic treatment. *Parasitology Research*, 98, 333-338.

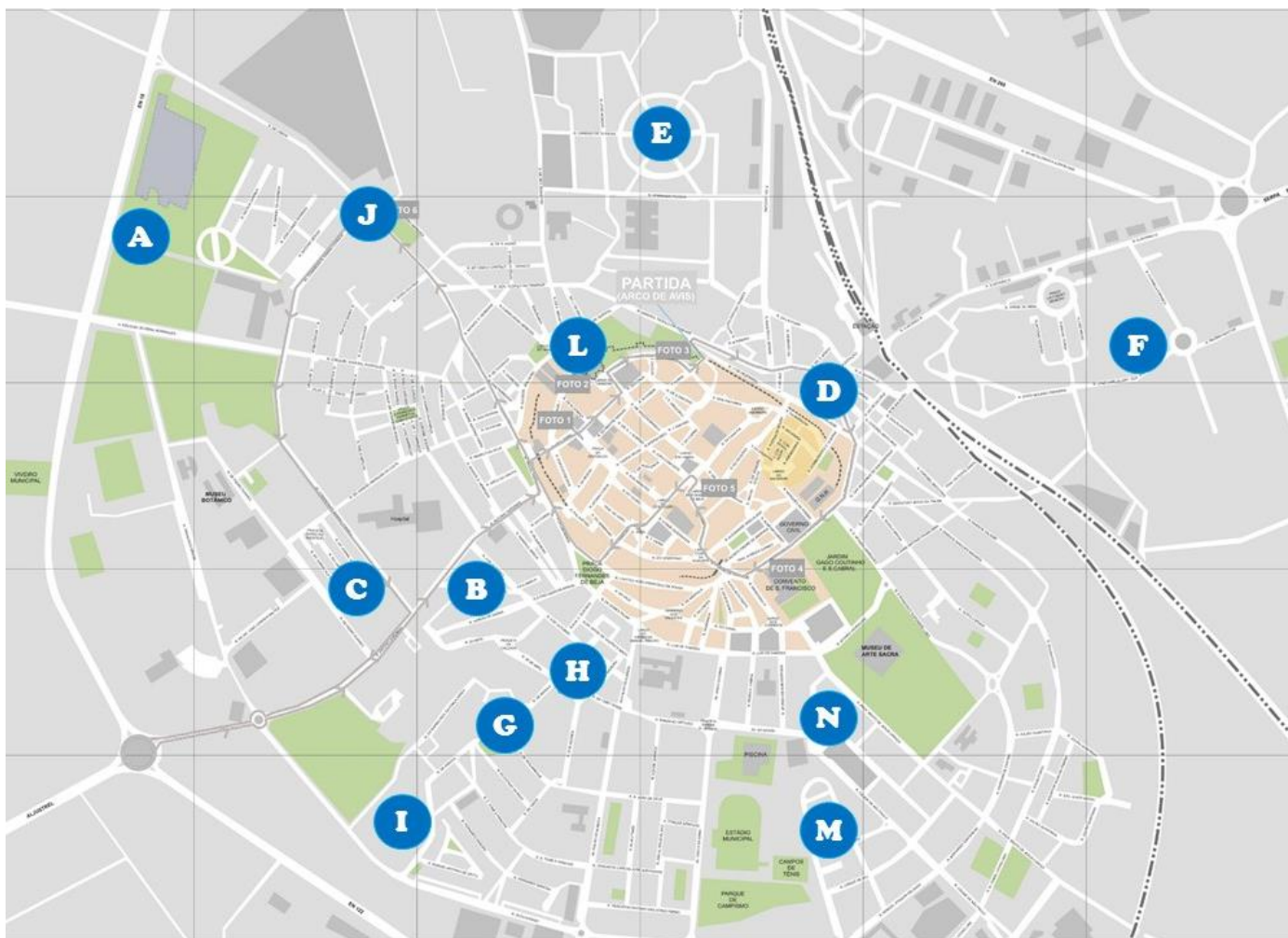
- Santos, J. P. (2014). Estudo observacional transversal de parasitas em cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira, Portugal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.
- Savioli, L., Smith, H., & Thompson, A. (2006). *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Trends in Parasitology*, 22(5), 203-208.
- Schantz, P. M. (1994) Of worms, dogs and human hosts: continuing challenges for veterinarians in prevention of human disease. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 204, 1023-1028.
- Schantz, P. M., Moorhead, A. R., Dickerson, J. W., Roberts, J. (1994) Intestinal parasites are common in pound dogs in Fulton County, Georgia. *Procedures of the Annual Meeting of the American Association of Veterinary Parasitology*, 80, 93-94. San Francisco.
- Scorza, V. & Tangtrongsup, S. (2010). Update on the diagnosis and management of *Cryptosporidium* spp. infections in dogs and cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25(3), 163-169
- Tangtrongsup, S. & Scorza, V. (2010). Update on the diagnosis and management of *Giardia* spp. infections in dogs and cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25(3), 155-162.
- Taylor, L. H., Latham, S. M., & Woolhouse, M. E. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 356, 983-989.
- Thienpont, D., Rochette, F., & Vanparijs, O. F. (1979). *Diagnosing helminthiasis through coprological examination*. Beerse, Belgium: Janssen Research Foundation.
- Thompson, R. C., Hopkins, R. M., & Homan, W. L. (2000). Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. *Parasitology Today*, 16(5), 210-213.
- Traub, R. J. (2008). The veterinary and public health significance of *Giardia* and *Cryptosporidium*: getting things in perspective. *The Veterinary Journal*, 177, 309-310.
- Traversa, D., Regalbono, A. F., Cesare, A., Torre, F. L., Drake, J., & Pietrobelli, M. (2014). Environmental contamination by canin geohelminths. *Parasites & Vectors*, 7(67), (artigo a publicar).
- Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., & Jennings, F. W. (1996). *Veterinary Parasitology* (2nd ed.). Oxford: Blackwell Science.
- Walker, N. I., Croese, J., Clouston, A. D., Parry, M., Loukas, A., Prociv, P. (1995). Eosinophilic enteritis in northeastern Australia – Pathology, association with *Ancylostoma caninum* and implications. *American Journal of Surgical Pathology*, 19, 328-337
- Wang, A., Ruch-Gallie, R., Scorza, V., Lin, P., & Lappin, M. R. (2012). Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* species in dog park attending dogs compared to non-dog park attending dogs in one region of Colorado. *Veterinary Parasitology*, 184, 335-340.

- Wolfe, A., & Wright, I. P. (2003). Human toxocariasis and direct contact with dogs. *Veterinary Record*, 152, 419-422.
- Xiao, L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Experimental Parasitology*, 124, 80-89.
- Zagloul, D. A., Mohamed, A., Khodari, Y. A., & Farooq, M. U. (2013). Crypto-Giardia antigen rapid test versus conventional modified Ziehl-Neelsen acid fast staining method for diagnosis of cryptosporidiosis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 212-215.
- Zajac, A. M., & Conboy, G. A. (2012). *Veterinary Clinical Parasitology* (8th ed.). Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.

Anexos

Anexo 1 – Mapa da cidade de Beja com os pontos de recolha de amostras assinalados.

Figura 20 - Mapa da cidade de Beja, com locais de recolha identificados.



Anexo 2 – Adaptação do protocolo da técnica de Imunofluorescência Direta com recurso ao *kit* Crypto/Giardia Cell IF (Cellabs®)

- 1) Preparar uma diluição de cada amostra a 1/10 em água destilada;
- 2) Retirar 15 µL de cada amostra diluída e colocar num poço da lâmina;
- 3) Deixar a lâmina a secar ao ar até que os poços estejam completamente secos;
- 4) Fixar as lâminas com acetona, por um período de 5 minutos deixar a secar ao ar;
- 5) Adicionar 25 µL do reagente Giardia/Crypto Cel (RR2) a cada poço da lâmina;
- 6) Colocar a lâmina a incubar na estufa, a 37 °C, durante um período de 30 minutos;
- 7) Lavar a lâmina com PBS durante 1 minuto e deixar secar;
- 8) Adicionar a cada poço uma gota de meio de montagem (RMG);
- 9) Colocar uma lamela sobre a lâmina, eliminando as bolas de ar e observar em microscópio de fluorescência com ampliação de 400x e 1000x.

Anexo 3 – Resultados obtidos nas análises das amostras em estudo

Tabela 5 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas.

| Nº. | Local | Data recolha | Data análise | Consistência | Exame macroscópico | Técnica de Willis | Técnica de Baermann | Giemsa | Ziehl-Neelsen | IF |
|-----|-------|-----------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------------|------------------------|--------|--------------------|------|
| 1 | A | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 2 | A | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 3 | A | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 4 | A | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 5 | A | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 6 | A | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 7 | B | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 8 | B | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 9 | B | 17 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 10 | C | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 11 | C | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 12 | C | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 13 | D | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Crypto</i> | Neg. |
| 14 | D | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 15 | E | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 16 | E | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 17 | E | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 18 | E | 18 de março | 24 de março | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 19 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 20 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 21 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 22 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 23 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 24 | B | 18 de março | 3 de abril | Pastosa | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 25 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 26 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 27 | B | 18 de março | 3 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |

Tabela 5 - Resultados obtidos nas total das amostras analisadas (continuação).

| Nº. | Local | Data recolha | Data análise | Consistência | Exame macroscópico | Técnica de Willis | Técnica de Baermann | Giemsa | Ziehl-Neelsen | IF |
|-----|-------|-----------------|--------------|--------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|--------|---------------------|------|
| 28 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 29 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 30 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 31 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 32 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 33 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 34 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 35 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 36 | F | 18 de março | 7 de abril | Pastosa | S/a | Ovos de ancilostomatídeo | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 37 | F | 18 de março | 7 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> | Neg. |
| 38 | F | 18 de março | 8 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 39 | F | 18 de março | 8 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> | Neg. |
| 40 | F | 18 de março | 8 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 41 | F | 18 de março | 8 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 42 | F | 18 de março | 8 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 43 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 44 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 45 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 46 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 47 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 48 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 49 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 50 | F | 18 de março | 9 de abril | Diarreia | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 51 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 52 | F | 18 de março | 9 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 53 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 54 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |

Tabela 5 - Resultados obtidos nas total das amostras analisadas (continuação).

| Nº. | Local | Data recolha | Data análise | Consistência | Exame macroscópico | Técnica de Willis | Técnica de Baermann | Giemsa | Ziehl-Neelsen | IFD |
|-----|-------|-----------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------------|------------------------|--------|---|------|
| 55 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 56 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 57 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> | Neg. |
| 58 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 59 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 60 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 61 | G | 19 de março | 10 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 62 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 63 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 64 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 65 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 66 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 67 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 68 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> | Neg. |
| 69 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 70 | H | 19 de março | 11 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 71 | C | 20 de março | 15 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 72 | I | 20 de março | 15 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 73 | I | 20 de março | 15 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 74 | I | 20 de março | 15 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 75 | I | 20 de março | 15 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 76 | I | 20 de março | 15 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 77 | I | 20 de março | 15 de abril | Pastosa | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> | Neg. |
| 78 | J | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 79 | J | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 80 | J | 21 de março | 16 de abril | Diarreia | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> Duv. <i>Crypto</i> | Neg. |
| 81 | J | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Crypto</i> | Neg. |

Tabela 5 - Resultados obtidos nas total das amostras analisadas (continuação).

| Nº. | Local | Data recolha | Data análise | Consistência | Exame macroscópico | Técnica de Willis | Técnica de Baermann | Giemsa | Ziehl-Neelsen | IF |
|-----|-------|-----------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------------|------------------------|--------|---|------|
| 82 | J | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 83 | J | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 84 | L | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 85 | L | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 86 | L | 21 de março | 16 de abril | Diarreia | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 87 | L | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Crypto</i> | Neg. |
| 88 | L | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 89 | L | 21 de março | 16 de abril | Pastosa | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 90 | L | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 91 | L | 21 de março | 16 de abril | Pastosa | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 92 | M | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 93 | M | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 94 | M | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 95 | M | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 96 | M | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 97 | M | 21 de março | 16 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 98 | M | 21 de março | 16 de abril | Diarreia | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 99 | N | 21 de março | 17 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 100 | N | 21 de março | 17 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 101 | N | 21 de março | 17 de abril | Pastosa | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 102 | N | 21 de março | 17 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 103 | N | 21 de março | 17 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 104 | N | 21 de março | 17 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> Duv. <i>Crypto</i> | Neg. |
| 105 | N | 21 de março | 17 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 106 | N | 21 de março | 17 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 107 | N | 21 de março | 21 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 108 | N | 21 de março | 21 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 109 | N | 21 de março | 21 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |

Tabela 5 - Resultados obtidos nas total das amostras analisadas (continuação).

| Nº. | Local | Data recolha | Data análise | Consistência | Exame macroscópico | Técnica de Willis | Técnica de Baermann | Giemsa | Ziehl-Neelsen | IF |
|-----|-------|-----------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------------|------------------------|--------|---------------------|------|
| 110 | N | 21 de março | 21 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 111 | N | 21 de março | 21 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 112 | N | 21 de março | 22 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 113 | N | 21 de março | 22 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 114 | N | 21 de março | 22 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | <i>Giardia</i> | |
| 115 | N | 21 de março | 22 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 116 | N | 21 de março | 22 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |
| 117 | N | 21 de março | 22 de abril | Pastosa | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Duv. <i>Giardia</i> | Neg. |
| 118 | N | 21 de março | 22 de abril | Normal | S/a | Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | |

Legenda:

| | |
|---------------------|--|
| S/a | Sem alterações ao exame macroscópico |
| Neg. | Resultado negativo |
| Duv. <i>Giardia</i> | Resultado duvidoso para quistos de <i>Giardia</i> spp. |
| Duv. <i>Crypto</i> | Resultado duvidoso para oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. |
| IF | Imunofluorescência direta |